

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



**“VALIDACIÓN DE TÉCNICA ANALÍTICA POR
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE PARA DETERMINACIÓN
CUANTITATIVA DE GLUTARALDEHÍDO 10,5% SOLUCIÓN
DISPOSITIVO MÉDICO”**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO Y BIOQUÍMICO**

TESISTA:

Bach. Canaza Luque, Elizabeth Marisa

ASESOR:

Mg. Q.F. Montellanos Cabrera, Henry

LIMA – PERÚ

2018

TÍTULO:

**“VALIDACIÓN DE TÉCNICA ANALÍTICA POR
ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE PARA DETERMINACIÓN
CUANTITATIVA DE GLUTARALDEHÍDO 10,5% SOLUCIÓN
DISPOSITIVO MÉDICO”**

Dedicatoria

A Dios, por permitirme vivir este gran momento de felicidad. A mis padres Salomón Canaza y María Luque por brindarme su amor, apoyo incondicional, son un ejemplo de lucha y perseverancia voy a seguir sus pasos, y a mis hermanos Richard, Roxana, Erika y Jenny por sus oraciones y aliento en seguir adelante con mis sueños y metas.

A mis sobrinos Mónica, Anghela, Junior, Luana, Zayra y Jeyko, espero ser un buen ejemplo para ustedes, porque ustedes son un ejemplo para mí veo en sus ojos fuerza, esperanza y lucha de que todo será mejor.

Agradecimiento

A Dios por ser pieza pilar en mi vida, y por sus múltiples bendiciones en el camino de estudio realizado en la Universidad Inca Garcilaso de la Vega de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, en especial a mis profesores Rodolfo Pumachagua Huertas y Daniel Echevarria Rodríguez-Sawao por su ayuda incondicional de consejos, orientación, sugerencias y amistad para la realización de nuestra tesis.

A Laboratorio ROKER PERU S.A. por brindarme el apoyo y facilidades de sus instalaciones en la realización de la investigación de trabajo.

A mis compañeros y amigos del trabajo en especial a Erica Canales, todos ellos me estuvieron dando su apoyo, a la QF. Rosario Chocano, QF. Fernando Saccatoma por ser los promotores de la realización de esta tesis y que hicieron todo lo posible para la culminación del presente trabajo y al D.T. José Villanueva.

A mi asesor Q.F. Henry Montellanos Cabrera, por la orientación y ayuda que me brindo para la realización de nuestra tesis.

A mis amigos Pamela Cachay, Jamer Vela y Javier Fernandez por su apoyo incondicional y gran amistad en toda la etapa universitaria.

ABREVIATURAS

f:	Factor de respuesta.
r:	Coeficiente de correlación.
r ² :	Coeficiente de determinación.
t:	Test estadístico de Student.
x:	Valor nominal.
y:	Valor experimental.
Abs:	Absorbancias.
b:	Pendiente.
C:	Concentración.
CV:	Coeficiente de variación.
AOAC:	Association of Official Analytical chemist. (Asociación de químico analítico oficial).
DS:	Desviación estándar.
DIGEMID:	Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas.
FDA:	Food and Drug Administration (Agencia de Alimentos y Medicamentos).
GMP (BPM):	Good Manufacturing Practices (Buenas Prácticas de Manufactura).
GLP (BPL):	Good Laboratory Practices (Buenas Prácticas de Laboratorio).
ICH:	International Conference of Harmonization (Conferencia internacional de armonización).
ISO:	International Organization for Harmonization (Organización internacional de armonización).
Ho:	Hipótesis nula.
H1:	Hipótesis alternativa.

mg:	Miligramos.
MINSA:	Ministerio de Salud.
mL:	Mililitro.
Mta:	Muestra.
nm:	Nanómetros.
NCF:	Normas correctas de fabricación.
OMS:	Organización Mundial de salud.
R (R%):	Porcentaje de recuperación.
USP:	United States Pharmacopeia (Farmacopea de Estados Unidos).
UV:	Ultravioleta.
Vis:	Visible.
µg/mL:	Microgramo por mililitro.
µg:	Microgramo.

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Abreviaturas	
Índice	
Índice de Tablas	
Índice de Cuadros	
Índice de Gráficos	
Índice de Figuras	
Índice de Ecuaciones	
Índice de Anexos	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción de la realidad problemática.	3
1.2. Identificación y formulación del problema.	3
1.2.1. Problema general.	3
1.2.2. Problemas específicos.	3
1.3. Objetivos de la investigación.	4
1.3.1. Objetivo general.	4
1.3.2. Objetivos específicos.	4
1.4. Justificación de la investigación.	4
1.5. Limitaciones de la investigación.	5
CAPITULO II: MARCO TEORICO	
2.1. Antecedentes de la investigación.	6

2.1.1. Antecedente nacional.	6
2.1.2. Antecedente extranjero.	7
2.2. Bases legales.	8
2.2.1 Normas nacionales.	8
2.2.2 Normas internacionales.	8
2.3. Bases teóricas.	9
2.3.1. Sistema de calidad.	9
2.3.1.1. Calidad de la industria farmacéutica.	9
2.3.1.2. Calidad.	9
2.3.1.3. Administración de la calidad en la industria farmacéutica.	10
2.3.1.4. Garantía de calidad.	10
2.3.1.5. Buenas Prácticas de Manufactura.	10
2.3.1.6. Buenas Prácticas de Laboratorio.	11
2.3.1.7. Control de la calidad.	11
2.3.2. Validación.	11
2.3.2.1. Objetivos de la validación.	12
2.3.2.2. Tipos de validación.	12
2.3.2.2.1. Validación prospectiva.	12
2.3.2.2.2. Validación Retrospectiva.	12
2.3.2.2.3. Validación Concurrente.	12
2.3.2.2.4. Revalidación.	13
2.3.2.3. ¿Por qué Validar?	13
2.3.2.4. ¿Qué Validar?	13
2.3.2.5. Validación de métodos analíticos.	14
2.3.2.6. Datos requeridos para la validación de un método analítico.	15
2.3.2.6.1. Categoría I	15
2.3.2.6.2. Categoría II	16
2.3.2.6.3. Categoría III	16
2.3.2.6.4. Categoría IV	16
2.3.2.7. Las características de desempeño analítico.	16

2.3.2.7.1. Exactitud.	16
2.3.2.7.2. Precisión.	16
2.3.2.7.3. Especificidad/Selectividad.	17
2.3.2.7.4. Linealidad.	17
2.3.2.7.5. Robustez.	18
2.3.3. Espectrofotometría.	18
2.3.3.1. Espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Visible).	19
2.3.3.2. Espectrofotómetro.	19
2.3.3.4. Aspecto cuantitativo de la medición de absorción,	21
2.3.3.5. Ley de Lambert – Beer	21
2.3.4 Dispositivo médico.	22
2.3.4.1 Concepto dispositivo medico (DM).	22
2.3.4.2 Clasificaciones de los dispositivos médicos.	22
2.3.5 Glutaraldehído.	23
2.3.5.1. Resumen histórico Glutaraldehído.	23
2.3.5.2. Estructura química Glutaraldehído.	23
2.3.5.3. Características de Glutaraldehído.	24
2.3.5.4. Reactividad química del glutaraldehído.	25
2.4. Formulación de hipótesis.	27
2.4.1. Hipótesis general.	27
2.4.2. Hipótesis específicas.	27
2.5. Operacionalización de variables e indicadores.	27
2.6. Definición de términos básicos.	28

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Metodología.	30
3.2. Tipo y nivel de investigación.	30
3.3. Diseño de investigación.	30
3.4. Población y muestra.	31
3.4.1. Población.	31
3.4.2. Muestra.	31
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	31
3.6. Descripción y validación de los instrumentos.	31
3.6.1. Reactivos.	31
3.6.2. Materiales.	32
3.6.3. Equipos.	32
3.6.4. Procesamiento de la muestra.	33
3.6.4.1. Limpieza de materiales.	33
3.6.4.2. Cantidad de muestra a usar.	33
3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.	33
3.7.1. Fundamento de método.	33
3.7.3. Espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS.	33
3.7.4. Desarrollo de validación de la técnica analítica.	33
3.7.4.1. Protocolo de validación Glutaraldehído 10,5 % solución.	33

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos: Resultados.	54
4.2. Prueba de hipótesis.	95
4.3. Discusiones de resultados.	96

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.	99
5.2. Recomendaciones.	100

Referencias Bibliográficas

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Parámetro de desempeño analítico requerido para la validación según (USP).....	18
Tabla N° 2	Parámetros de desempeño analítico requeridos para la validación según (ICH).....	18
Tabla N° 3	Tabulación de las absorbancias obtenidas, % de glutaraldehído y el % de recuperación del analito en el parámetro de linealidad de sistema (5 concentraciones)..	54
Tabla N° 4	Tabulación de la concentración teórica y concentración practica de glutaraldehído en el parámetro de linealidad de sistema.....	55
Tabla N° 5	Concentración teórico y práctico de glutaraldehído y el factor hallado por cada intersección del parámetro de linealidad de sistema.....	58
Tabla N° 6	Tabulación de las absorvancias obtenidas, % de glutaraldehido y el % de recuperación del analito en el parametro de linealidad de método (3 concentraciones)..	63
Tabla N° 7	Tabulación de la concentración teórica y practica de glutaraldehido en el parametro de linealidad de método...	64
Tabla N° 8	Cocentración teorica y practica de glutaraldehido y el factor hallado por cada interseccion del parametro linealidad de método.....	67
Tabla N° 9	Tabulación de las absorbancias obtenidas, % de glutaraldehído y % recuperación del analito del parámetro precisión – repetibilidad.....	71

Tabla N° 10	Promedio de las concentraciones obtenidas y el % de recuperación por cada muestra de trabajo del parámetro de precisión – repetibilidad.....	72
Tabla N° 11	Resultados estadísticos para la repetibilidad del parámetro de precisión de la técnica analítica de acuerdo con los datos de la tabla 9; obtenidos del tratamiento estadístico para las 18 muestras en la determinación de glutaraldehído.....	73
Tabla N° 12	Verificación del producto glutaraldehído día 1 y 2 (diferentes analistas) del parámetro de precisión intermedia de acuerdo con la técnica analítica.....	74
Tabla N° 13	Concentraciones obtenidas por cada muestra de trabajo (analistas diferentes) del parámetro precisión intermedia.	75
Tabla N° 14	Resultado estadístico para la precisión intermedia de la técnica analítica, de acuerdo con los datos de la tabla 12 para el glutaraldehído.....	76
Tabla N° 15	Aplicación del test estadístico ANOVA de acuerdo al análisis de glutaraldehído.....	77
Tabla N° 16	Resultado estadístico del parámetro de precisión intermedia del método con la aplicación de ANOVA.....	77
Tabla N° 17	Resultado estadístico del parámetro de precisión intermedia, aplicando SPSS de acuerdo al porcentaje de límites de confianza (recuperación).....	78
Tabla N° 18	Tabulación de datos obtenidos de la cuantificación del agregado en el placebo y el % de recuperación de glutaraldehído en cada grupo de concentración de muestra, parámetro de exactitud.....	80

Tabla N° 19	Resultado de la aplicación del test de Cochran “G” de acuerdo con la tabla 15 para el parámetro de exactitud....	82
Tabla N° 20	Resultado estadístico del parámetro de exactitud, recuperación del analito de acuerdo a la tabla 8 para las diferentes muestras enriquecidas con analito (glutaraldehído + placebo).....	83
Tabla N° 21	Resultado del parámetro de especificidad, aplicando la data estadística SPSS.....	86
Tabla N° 22	Resultado del parámetro de selectividad aplicando la data estadística SPSS.....	88
Tabla N° 23	Resultado del parámetro de selectividad aplicando la data estadística ANOVA para la prueba de homogeneidad de varianzas.....	89
Tabla N° 24	Prueba ANOVA aplicando el parámetro de selectividad..	90
Tabla N° 25	Comparaciones múltiples de Tukey para el parámetro de selectividad.....	91
Tabla N° 26	Resultado de % de discrepancia para el parámetro de selectividad.....	91
Tabla N° 27	Absorbancias y concentraciones adquiridas (practica) en cada muestra % de glutaraldehído del parámetro de robustez.....	92
Tabla N° 28	Factores nominales, alternativos en los resultados obtenidos para la prueba de robustez del test de Youden y Steiner para el glutaraldehído.....	93
Tabla N° 29	Test de Youden y Steiner para el glutaraldehído recuperado en la muestra (Aquacide) con siete factores variantes del parámetro robustez.....	93

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Lista de materiales a usar en el proceso de validación del procedimiento analítico.....	37
Cuadro 2: Glutaraldehído 10.5% solución, cada 100 mL contiene.....	38
Cuadro 3: Placebo para glutaraldehído 10.5% solución.....	38
Cuadro 4: Pesos estimados de Glutaraldehído (Potencia: 50.0). Siendo el 100% una concentración final de 10.5% y las concentraciones conocidas.....	46
Cuadro 5: Pesos estimados de Glutaraldehído 80%, 100%, y 120% de las concentraciones estimadas de glutaraldehído.....	47
Cuadro 6: Pesos estimados de glutaraldehído (Potencia: 50.2%), siendo el 100% una concentración final de 10.5% y las concentraciones conocidas.....	49
Cuadro 7: Factores de variación en el proceso de valoración de Glutaraldehído.....	50
Cuadro 8: Parámetros y criterios de aceptación de la técnica analítica a evaluar.....	53

ÍNDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1: Porcentaje de concentración teórica de glutaraldehído en relación con la concentración práctica. Valoración por el método espectrofotométrico del parámetro de linealidad de sistema.....	55
Gráfico 2: Porcentaje de concentración teórica de glutaraldehído en relación con la concentración práctica. Valoración por el método de espectrofotométrico de linealidad de método.....	64
Gráfico 3: Concentración de glutaraldehído encontrada en la práctica de acuerdo a las muestras preparadas a diferentes concentraciones en relación con concentración teórica de glutaraldehído del parámetro exactitud.....	84
Gráfico 4: Diferentes muestras preparadas con y sin glutaraldehído en la respuesta encontrada por espectrofotometría. Las barras nos indican la respuesta del analito y las muestras sin analito no tuvieron respuesta considerable del parámetro selectividad.....	87
Gráfico 5: Diferencia de las muestras preparadas para el parámetro de selectividad de acuerdo al porcentaje de recuperación aplicada en SPSS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemática del aparato usado, basado en la absorción de energía radiante.....	20
Figura 2. Representación esquemática de un espectrofotómetro de doble haz....	20
Figura 3: Esquema de la espectrofotometría UV-Visible.....	21
Figura 4. Fórmula de la ley de Lambert Beer.....	21
Figura 5. Fórmula estructural de glutaraldehído.....	23
Figura 6. “Crosslinking” (formación de nuevos enlaces) entrecruzamiento de componentes celulares.....	26
Figura 7. Diagrama de cajas del porcentaje de recuperación del parámetro de selectividad.....	90

ÍNDICE DE ECUACIONES

Nº	ECUACIÓN	Págs.
Ecuación 1	$Y = b * X + a$	58
Ecuación 2	$a = \frac{\sum X^2 \sum Y - \sum X \sum XY}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$	58
Ecuación 3	$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$	59
Ecuación 4	$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$	59
Ecuación 5	$t_{exp} = \frac{ r \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$	60
Ecuación 6	$S_{x,y}^2 = \frac{\sum Y^2 - a \sum Y - b \sum XY}{n-2}$	61
Ecuación 7	$S_b^2 = \frac{S_{x,y}^2}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$	61
Ecuación 8	$S_b = \sqrt{S_b^2}$	61
Ecuación 9	$S_{b \text{ real } \%} = \frac{S_b}{b} * 100$	62
Ecuación 10	$b \pm t_{\text{tabla}} * S_b$	62
Ecuación 11	$t_{exp} = \frac{ b }{S_b}$	62

Ecuación 12	$S_a^2 = S_b^2 * \frac{(\sum X)^2}{n}$	62
Ecuación 13	$S_{a\text{real}} \% = \frac{S_a}{a} * 100$	63
Ecuación 14	$a \pm t_{\text{tabla}} * S_a$	63
Ecuación 15	$t_{\text{exp}} = \frac{ a }{S_a}$	63
Ecuación 16	$P X = \frac{\sum_{i=1}^N X}{n}$	72
Ecuación 17	$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_{\text{prom}})^2}{n-1}}$	72
Ecuación 18	$CV = \frac{S * 100}{X_{\text{prom}}}$	72
Ecuación 19	$\frac{(u = X_{\text{prom}} \pm T_{\text{tabla}} S)}{\sqrt{n}}$	73
Ecuación 20	$G_{\text{exp}} = \frac{S_{\text{max}}^2}{\sum S_i^2} < G_{\text{tabla}}$	79
Ecuación 21	$t_{\text{exp}} = \frac{ 100 - R_{\text{prom}} \sqrt{n}}{CV} < t_{\text{tabla}}$	80

ANEXOS

Anexo N°1: Representación de preparación, disolución y concentración de glutaraldehído.....	107
Anexo N°2: Equipo espectrofotómetro UV-Visible marca Thermo Cientific modelo Genesys 10s uv-vis.....	110
Anexo N°3: Equipo espectrofotómetro uv-visible partes internas marca Thermo Cientific modelo Genesys 10s uv-vis.....	111
Anexo N°4: Idoneidad del método en espectrofotometría uv-visible.....	112
Anexo N°5: Calibrado del sistema en espectrofotometría uv-visible.....	113
Anexo N°6: Espectros del parámetro de linealidad de sistema.....	114
Anexo N°7: Espectros del parámetro de linealidad del método.....	115
Anexo N°8: Espectros del parámetro de exactitud.....	116
Anexo N°9: Certificado de calidad glutaraldehído.....	117
Anexo N°10: Certificado de hoja de seguridad del glutaraldehído.....	118
Anexo N°11: Certificado de calibración balanza Mettler Toledo.....	119
Anexo N°12: Certificado de calibración de termómetro de vidrio y material de vidrio.....	120
Anexo N°13: Certificado de calibración de picnómetro.....	121
Anexo N°14: Certificado de la data estadística.....	122
Anexo N°15: Evidencia experimental fotos.....	123
Anexo N°16: Matriz de consistencia.....	124

RESUMEN

La presente investigación, se planteó la validación de la técnica analítica de glutaraldehído 10,5% solución bajo la forma de dispositivo médico por lo cual no figura en ninguna obra oficial y se procedió a evaluar los parámetros estipulados en la USP 40 como: selectividad, precisión, exactitud, linealidad y robustez. El estudio básico-experimental se realizó en el departamento de control de calidad del laboratorio Roker, lima durante el año 2018; aplicando el método espectrofotometría UV-Visible. El objetivo del presente estudio fue validar la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible (Espectrofotómetro Genesys 10s uv-vis a 238 nm) para la determinación cuantitativa de glutaraldehído 10,5% solución para dispositivo médico clasificado como de alto riesgo por DIGEMID, se realizó en las condiciones ideales a partir de la preparación de estándares y muestras a concentraciones conocida y posteriormente se determina la aplicabilidad del método con la elaboración del protocolo de validación realizando el análisis experimental y procedimiento estadístico; los resultados obtenidos indicaron que el método era: la metodología analítica cumple con las características de ser lineal porque se obtuvo un coeficiente de correlación (0,99998) y un coeficiente de determinación (0,99997) cercano a la unidad. El método es preciso ya que el coeficiente de variación obtenido tanto en los ensayos de repetibilidad (0,1729) y precisión intermedia (0,1502) fue $CV < 2\%$; es exacto por tener un porcentaje de recuperación dentro del rango de 98%-102%. Es selectivo por no presentar interferencia al analito de interés glutaraldehído y es robusto por cumplir la desviación estándar $0,0203 < 0,00287$. El análisis por espectrofotometría UV-Visible del producto glutaraldehído dispositivos médicos es necesario y de uso rutinario, garantizando así la concentración del producto es apropiada, la técnica analítica propuesta es selectiva, lineal, precisa y exacta; comprobándose su validez.

Palabras clave: Validación, Técnicas analíticas, espectrofotometría UV-Visible, Glutaraldehído, Dispositivo Medico.

SUMMARY

The present investigation, likewise the validation of the analytical technique of glutaraldehyde 10.5% solution in the form of a medical device was considered, which is why it is not included in any official work and stipulated parameters in the USP 40 as: selectivity, precision, accuracy, linearity and robustness. The basic-experimental study was carried out in the quality control department of the Roker laboratory, Lima during the year 2018; applying the UV-Visible spectrophotometry method. The objective of the present study was to validate the analytical technique by UV-Visible spectrophotometry (Genesys 10s uv-vis spectrophotometer at 238 nm) for the quantitative determination of glutaraldehyde 10.5% solution for medical device classified as high risk by DIGEMID, was performed under the ideal conditions from the preparation of standards and samples at known concentrations and subsequently the applicability of the method is determined with the development of the validation protocol by performing the experimental analysis and statistical procedure; the results obtained indicated that the method was: the analytical methodology meets the characteristics of being linear because a correlation coefficient (0.999998) and a coefficient of determination (0.999997) close to unity were obtained. The method is accurate since the coefficient of variation obtained in both the repeatability tests (0.1729) and intermediate precision (0.1502) was CV <2%; It is accurate because it has a recovery percentage within the range of 98% - 102%. It is selective because it does not present interference to the analyte of interest glutaraldehyde and is robust to meet the standard deviation 0.0203 <0.00287. The analysis by UV-Visible spectrophotometry of the product glutaraldehyde medical devices is necessary and of routine use, thus guaranteeing the concentration of the product is appropriate, the analytical technique proposed is selective, linear, precise and exact; checking its validity.

Key words: Validation, Analytical techniques, UV-Visible spectrophotometry, Glutaraldehyde, Medical Device.

INTRODUCCIÓN

El análisis por el método espectrofotométrico UV-Visible para la cuantificación del producto terminado para el dispositivo médico (glutaraldehído) clasificado como de alto riesgo permite la valoración con exactitud y precisión de acuerdo a la validación de métodos o técnicas analíticas se fundamenta en la determinación de diversos parámetros aplicados por la USP 40, de acuerdo con la categoría a la que pertenezcan. La validación en si proporciona un alto grado de confianza y seguridad del método analítico y se realiza con carácter obligatorio para el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) la validación es un requisito indispensable que está establecido por las agencias reguladoras y libros oficiales; contribuye a garantizar la calidad y asegurar las propiedades de calidad de un producto terminado. La calidad de los resultados analíticos debe estar amparada mediante la fiabilidad y reproducibilidad del método analítico utilizado en su obtención y esta demostración debe estar debidamente documentada con el detalle de la preparación de las muestras efectuadas y datos obtenidos. Conscientes de la importancia del tema, entidades de carácter oficial como la FDA, OMS, USP, ICH además de las farmacopeas europeas consignan a la ineludible necesidad de la validación en procesos analíticos y el ente regulador nacional es DIGEMID.

La investigación refiere al área de industria farmacéutica, sobre el tema validación de técnica analítica analizada por espectrofotometría UV-Visible en determinación cuantitativa de glutaraldehído 10,5% solución en dispositivo médico. La validación es parte fundamental de la Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Validación del método o técnica analítica brinda la seguridad de obtener resultados dentro de especificaciones, mediante el cumplimiento de procesos, procedimientos, equipos, métodos o sistemas producidos consistentemente para un producto terminado, previamente establecido por un protocolo, de acuerdo a los parámetros según la categoría de análisis, basada en metodologías explicativas y el cumplimiento de la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID).

Una herramienta y pieza clave para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos cosméticos es la validación. Hoy por hoy, la validación es una necesidad en la industria farmacéutica (Dispositivo medico) para obtener productos de alta calidad y mejorar la productividad. Se realizó la investigación en Laboratorios ROKER PERU S.A.

La presente investigación se ha ordenado en V capítulos:

Capítulo I, se realizan las explicaciones de la realidad problemática con el objetivo general – específicos, justificación y limitación de la investigación.

Capítulo II, se desarrollan las bases teóricas, antecedentes de la investigación, las bases legales nacionales e internacionales, formulación de hipótesis y la operacionalización de variables de la investigación ejecutada.

Capítulo III, se detallan la descripción metodológica de la investigación; validación de la técnica analítica analizada por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa de glutaraldehído a la concentración de 10,5% solución dispositivo médico.

Capítulo IV, se presentan el resultado de análisis aplicado, los datos analíticos son procesados en programa Excel y SPSS.

Capítulo V, se conocen las conclusiones que son determinadas por la investigación y las recomendaciones para futuros estudios.

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática.

El objetivo y prioridad más importante de la industria farmacéutica, es asegurar la calidad de su producto, dentro de la industria farmacéutica se debe garantizar la fiabilidad de datos obtenidos mediante un análisis, ya que, a partir del resultado proporcionado se tomarán decisiones futuras con respecto al producto.

La técnica analítica es fundamental en el sistema de control y aseguramiento de la calidad, con la finalidad de garantizar que un producto farmacéutico o dispositivo médico cumpla con el parámetro establecido según categoría aplicativa por la USP; la investigación presentada es la validación de técnica analítica por espectrofotometría ultravioleta-visible para la determinación cuantitativa del glutaraldehído 10,5% solución productos dispositivo médico y el cumplimiento de las normas internacionales y nacionales para la inscripción de un producto nuevo ante el ente regulador DIGEMID, cumpliendo con los parámetros requeridos para la validación de la técnica analítica de calidad establecidos.¹

Para poder asegurar la calidad de los datos provenientes del análisis, es necesario validar el método, ya que, se podrán obtener resultados con la confiabilidad requerida. El concepto de validación engloba un concepto avanzado que trata de conseguir un total dominio de la calidad, que brindará la fiabilidad y reproducibilidad de esta, por lo que es necesario validar las técnicas de análisis de un producto.²

1.2. Identificación y formulación del problema.

1.2.1. Problema general.

¿En qué medida cumplirá la validación de la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5% solución dispositivo médico?

1.2.2. Problemas específicos.

1. ¿De qué manera se podrá desarrollar un protocolo del proceso de validación de la técnica analítica con exigencias de exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez?
2. ¿En qué medida será confiable y segura la validación técnica analítica del Glutaraldehído 10,5% solución a analizar?
3. ¿Cuáles serán las conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica para la determinación de Glutaraldehído 10,5%?

1.3. Objetivos de la investigación.

1.3.1. Objetivo general.

Validar la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5% en solución dispositivo médico.

1.3.2. Objetivos específicos.

1. Desarrollar un protocolo para la validación de la técnica, cumpliendo las exigencias de exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez.
2. Determinar la confiabilidad y seguridad de la validación técnica analítica de Glutaraldehído 10,5% analizado.
3. Determinar la conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica para la determinación de Glutaraldehído 10,5%.

1.4. Justificación de la investigación.

El propósito del presente trabajo de investigación, es dar a conocer que la validación es un tema de interés creciente, desarrollado en las diferentes áreas, como la industria farmacéutica (dispositivo médico) debido a la obtención de la calidad y seguridad del producto; y una mejora de la productividad.

El análisis cuantitativo de glutaraldehído a la concentración de 10,5% dispositivo médico no se encuentra descrita en monografías oficiales, por lo que es necesario realizar la validación de una técnica analítica.

La validación se realiza para obtener métodos confiables y seguros como es la técnica analítica del glutaraldehído 10,5% dispositivo médico mediante la determinación cuantitativa por espectrofotometría ultravioleta-visible; el glutaraldehído cumple la función de desinfección, se ubica en la clasificación de dispositivo médico en la clase III – de alto riesgo; por esta razón, se debe llegar como producto terminado a las concentraciones indicadas, el glutaraldehído es un esterilizante en frío y desinfectante de alto nivel, de material termosensible principalmente de endoscopios y partes ópticas cumpliendo la acción de bactericida, fungicida y virucida, elimina los principales microorganismos potencializados patógenos de incidencia hospitalaria.

Los laboratorios desempeñan un control muy específico, se encargan de analizar el producto cumpliendo los requisitos de calidad con la utilización de métodos, especificaciones establecidos.^{1,2} La organización internacional para la estandarización (ISO) en su norma 17025 refiere: El laboratorio debe validar los métodos o técnicas que utilice, desarrollado por ellos mismos (propios), de fuente bibliográfica o desarrollado por otro laboratorio (transferencias). Además, es necesario que el laboratorio valide el método de referencia, sin embargo, no es necesario realizar una validación completa.^{3,4}

La validación es una exigencia imprescindible establecida por autoridades que fijan normas muy estrictas, como las agencias reguladoras y libros oficiales (países de alta vigilancia sanitaria). Entre los entes reguladores internacionales más importantes, tenemos a la Internacional Conferencia de Armonización (ICH) y la administración de alimentos y medicamento (FDA). A nivel nacional, la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID).^{5, 6}

1.5. Limitaciones de la investigación.

La presente investigación cuenta con las limitaciones de no realizarlo por Cromatografía líquida de Alta Eficacia HPLC (High Performance Liquid Chromatography) por motivo de costos y que el dispositivo médico glutaraldehído 10,5% (Aquacide) no se enfrentará a otra marca comercial y la reproducibilidad con otros laboratorios.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

La misión de la industria farmacéutica de dispositivos médicos, es producir dispositivos médicos de calidad acorde a las normas de calidad vigente tanto en el ámbito nacional e internacional, por ello, los dispositivos médicos son sometidos a rigurosos análisis que requieren un método o técnica analítica, validado según su clasificación de riesgo.

La validación de técnica analítica es la parte integral de un sistema adecuado de calidad porque confiere fiabilidad al resultado obtenido por el laboratorio. La validación es la obtención de prueba documentaria con ayuda de las normas correctas de fabricación (NCF), en la obtención de registros, procedimientos, procesos, actividad o sistema que conduce a la realidad prevista.¹¹

2.1. Antecedentes de la investigación.

2.1.1. Antecedentes nacionales.

García J. (2016)⁷. Realizaron la validación de técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la cuantificación e identificación de riboflavina, con el Objetivo de validar la técnica analítica utilizada en la determinación cuantitativa e identificación de esta, por espectrofotometría UV - Visible, utilizando el método espectrofotométrico modificado y propuesto por el departamento de control de calidad de laboratorios Biomont, se obtuvo como Conclusión: el método analítico es válido por cumplir parámetros de linealidad, exactitud y precisión, aplicable para la cuantificación e identificación de riboflavina.

Mariños A, Mendoza B. (2012)⁵. Realizaron la validación del método analítico por espectrofotometría UV/VIS visible para la cuantificación de glibenclamida 5 mg en tabletas con el Objetivo de validar el método analítico empleado para la cuantificación de glibenclamida cumple con los parámetros de validación (linealidad, exactitud, precisión y especificidad) para el uso específico previsto, utilizando el método espectrofotométrico modificado y propuesto por el departamento de aseguramiento de la calidad del laboratorio Medsol se obtuvo como Conclusión: el método desarrollado por espectrofotometría

UV/VIS visible permite obtener resultados confiables y cumple con los criterios establecidos por la USP 34 excepto para selectividad.

2.1.2. Antecedentes extranjeros.

Paizano H, Ruiz B. (2016)⁹. Realizaron la validación del método espectrofotométrico UV-Visible para la cuantificación y disolución de tinidazol tableta de concentración 500 mg, en el laboratorio nacional de control de calidad de medicamentos; con el Objetivo de comprobar la idoneidad del método analítico, para la cuantificación de tinidazol tabletas de concentración 500 mg por espectrofotometría UV-visible, utilizando el método Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la calidad de los Medicamentos, ICH 2002, (AEFI 2001), (FDA 2010) Guía para la industria: pruebas de disolución, formas de dosificación oral solidas de liberación inmediata, Unión Aduanera 2004: Guía de Validación de Métodos Analíticos. Conclusión: Se comprobó la idoneidad del método analítico para la cuantificación de tinidazol tabletas de concentración 500 mg por espectrofotometría UV-Visible, cumpliendo con los criterios de aceptación y teniendo como resultado un CV $\leq 2\%$.

Guerrero J. (2016)⁴³. Realizaron el diseño e implementación de protocolos de validación para equipos médicos/quirúrgicos de monitoreo y control; con el objetivo de diseñar, implementar y evaluar protocolos de validación para equipos médicos próximos a introducir al mercado dentro del marco del fortalecimientos de la plataforma tecnológica especializada en salud y desarrollo de tecnología biomédica, utilizando el método de características de diseño desarrolladas para un plan de pruebas de acuerdo al ensayo aplicado del dispositivo, estos tipos de pruebas, verificaciones y evaluación se encuentran de tipo documental, técnico y funcional al diseño y fabricación del dispositivo. Conclusión: las pruebas de validación son exhaustivas y proporciona un apoyo técnico normativo, en los procesos regulatorios mundiales no se rechaza la evaluación de un dispositivo por lo contrario se busca un producto y equipo confiable y seguro.

Zetina A. (2010)⁴⁴. Realizaron la comparación de la efectividad desinfectante del glutaraldehído GLUTASEPT® (SEPTODONT) con PERESAL® (KAVO); mediante inóculos bacterianos con el Objetivo de evaluar la efectividad de dos germicidas, glutaraldehído GLUTASEPT® y ácido perclórico + H₂O₂ PERESAL® en condiciones similares utilizando para ello cultivos microbiológicos, utilizando el método de contaminación de 20 espejos dentales de metal denteco® previamente esterilizados con Staphylococcus Aureus en concentración de 1,0 x 10⁶ UFC en caldo de Letheen, lo cual se desinfectó posteriormente con los espejos sumergidos por 30 minutos independientemente de cada solución que es PERESAL® al 1% y GLUTASEPT® al 2%. Conclusión: se concluye que no existe diferencia en la efectividad desinfectante de los dos germicidas utilizados en la investigación, pues no se encontró crecimiento bacteriano en ninguna de las placas petri utilizadas en el estudio.

2.2. Bases legales

2.2.1. Normas nacionales.

- Ley N.º 29459 - Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios.
- Decreto Supremo N.º 016-2011/SA se aprobó el reglamento para registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, el cual dispone respectivamente en sus artículos sobre validación se encuentran el N.º 40, 53, 62, 70, 81, 93, y 104.
- Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos: R.M. N.º 055-99-SA/DM del 08 de febrero de 1999.

2.2.2. Normas internacionales.

- La FDA (Food and Drug Administration) requiere la validación y documentación del método analítico para el registro de nuevos productos.
- Good Manufacturing Practice (GMP) - Buenas Prácticas de Manufactura de EE. UU. indica el cumplimiento de los parámetros de validación indicado en

farmacopeas como la exactitud, linealidad, especificidad o selectividad y reproducibilidad de los métodos analíticos utilizados y documentados.

- Compendios oficiales y/o farmacopeas empleadas como punto de partida para el desarrollo de validación, existen varias farmacopeas de reconocido prestigio: como la Farmacopea Americana (USP), Farmacopea internacional (OMS) o Farmacopea Británica (BP).
- ISO 17025 (Guía Organización Internacional de Normalización 17025).
- ISO 13485 sistema de gestión de la calidad para Dispositivos Médicos y servicios relacionados.
- ICH (Conferencia Internacional de Armonización).

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Sistema de calidad.

Método planificado por acciones y medios, conducido a asegurar la suficiente confianza de los productos como la realización de ajuste en la especificación.³ El laboratorio debe tener como propósito principal la característica de calidad en el análisis químico de sus productos para ser utilizado y producir consistentemente el resultado esperado; la calidad es la actividad desarrollada por el laboratorio en buscar y alcanzar el nivel de distinción en operación bajo el sistema de garantía de calidad donde se incluye un vasto y detallado documento.³⁰

2.3.1.1. La calidad de industria farmacéutica.

2.3.1.2 Calidad.

Es la totalidad de sus características y conjunto de calidad de producto y servicio, establecida por la Organización internacional de Normalización, se determina aplicando en cualquier tipo de organización o actividad, para la capacidad de satisfacer a los clientes, y orientada a un impacto previsto la producción de bienes o servicios.^{28, 29,30}

2.3.1.3. Administración de calidad en la industria farmacéutica.

La política de calidad; se determina, orienta y conduce en función general para el organismo de calidad que se exprese y autorice por las autoridades de la función administrativa.

Elementos de calidad:

- a) Sistema de Calidad, compromete la estructura del procedimiento, proceso y recurso.
- b) Garantía de la calidad, establece medidas para asegurar el producto por determinación de la condición de calidad que constituye el aspecto de la administración de la calidad. ^{28,29,30}

2.3.1.4. Garantía de calidad.

El propósito principal del laboratorio es la producción de resultados analíticos de alta calidad, mediante la medición precisa, confiable y adecuada para el producto. Es el conjunto de actividades que busca asegurar la calidad del producto farmacéutico, dispositivo médico y producto cosmético al uso que está destinado. Por lo tanto, la garantía es parte de las Buenas Prácticas de Manufactura y otros conceptos de alineamiento, desarrollo y diseño de producto. ^{28,29,30,31,32}

2.3.1.5. Buenas Prácticas de Manufactura.

Buenas Prácticas de Manufactura es el conjunto de normas mínimas establecidas hacia el laboratorio fabricante, para la ejecución de los procedimientos analíticos destinados a garantizar la calidad uniforme y satisfactoria del producto manufacturado y controlado consistentemente a los estándares de calidad adecuado a las características del diseño, estableciendo límites de aceptación y vigencia. ^{3,4,}

La aplicación de la Buenas Prácticas de Manufactura por parte de los fabricantes, es asegurar de forma uniforme que todos los lotes de los productos cumplan con las especificaciones declaradas para la obtención del registro sanitario que son envasados y rotulados correctamente y estable durante la vida útil conforme para su comercialización. ⁶

2.3.1.6. Buenas Prácticas de Laboratorio.

“Son normas aplicadas en procedimientos oficiales fundamentadas en técnicas, métodos, recursos y la realización de estas son un requerimiento

mínimo para parte de la integridad y calidad de un producto”, nace de un requisito útil, el obtener datos analíticos de confianza, estandarización de protocolo e información documentaria de todo el proceso, a seguridad del producto. La Buenas Prácticas de Laboratorio, pretende asegurar la calidad y validez del resultado obtenido de diferentes análisis.^{28,29,30}

2.3.1.7. Control de calidad.

Control de calidad es parte de la BPM, esto implica las siguientes condiciones: las especificaciones, muestreo, ensayo, análisis, así como la organización de procedimientos y documentación en la liberación del producto, es que se asegure de llevar a cabo los ensayos necesarios hasta que se compruebe la calidad y sea satisfactoria. El control de calidad no se limita a las operaciones de laboratorio, por lo contrario, está involucrado en todas las decisiones de la calidad de acuerdo al producto.³¹

2.3.2. Validación.

La validación es la base para establecer la calidad de todo producto evaluando las características de desempeño del método a resultados previstos en todo procedimiento, proceso es asegurar la obtención de resultados deseados. Se debe equipos, y métodos validar procedimientos, procesos de fabricación, limpieza, sanitización de áreas, analíticos.⁵

Puede ser indicado de diferente manera, pero el significado es siempre lo mismo:

- a) Especificar e implementar.
- b) Aprobar.
- c) Documentar.¹¹

Los estudios de validación están constituidos por parte de la BPM debe ser conforme a protocolos definido antemano.⁶

“Es el proceso que establece el estudio del laboratorio, de las características de desempeño del procedimiento cumple con los requisitos para la aplicación analítica prevista.” FDA. ³³.

“El objetivo de la validación es el procedimiento de análisis en demostrar que es conveniente para los fines previstos” ICH guideline Q2A.³⁴

“Validar un método básicamente es definir el requisito analítico del proceso para la confirmación que cuente con capacidades consistentes en las aplicaciones requeridas”. EURACHEM³⁵

2.3.2.1. Objetivo de la validación

El método o técnica analítica bajo el criterio de validación es dejar evidencia documentaria y demostración de la validez del método teniendo perfectamente caracterizado el analito, con la finalidad de asegurar la calidad y eficacia, de este modo, se demuestra la confianza y seguridad del método, para producir un resultado previsto dentro del criterio de aceptación definido.^{7,8,9,10,11}

2.3.2.2. Tipos de validación

2.3.2.2.1. Validación Prospectiva:

Se realiza la evidencia documentaria para demostrar que un proceso cumplirá con los propósitos previstos, basado en información obtenida antes de su implementación es referido para la fabricación de nuevos productos o cuando se realiza cambios elementales en proceso, equipo o sistema nuevo de trabajo.¹⁶

2.3.2.2.2. Validación Retrospectiva:

Involucra el método analítico de evaluación de experiencias pasadas a través de mucho tiempo, no dispone de evidencia documentaria y experimental de la producción, bajo las condiciones de composiciones, procedimientos y equipos en permanecer sin cambios.¹⁶

2.3.2.2.3. Validación Concurrente:

Se lleva a cabo durante la manufactura de rutina del producto a comercializar, se produce cuando es imposible completar la validación antes de su comercialización del producto. Se realiza en un limitado números de lotes producido.²⁹

2.3.2.2.4. Revalidación:

Es la validación repetida de un proceso aprobado para asegurar el cumplimiento continuo con los requerimientos establecidos. Se debe establecer en el momento de validación el proceso, los criterios, condiciones de instrumento, material o reactivo empleados originalmente, se realiza en periodos establecidos bajo las cuales se realizará una re-validación.²⁹

2.3.2.3. ¿Por qué Validar?

Porque mantiene el método o técnica estable, robusto y capaz. Al validar nos brinda la seguridad en las características específicas para mantener la calidad.

Entonces, ¿Por qué validar?:

- Validando se garantiza el cumplimiento de los requerimientos pre-establecidos, se confirma la exactitud y precisión.
- Validando se garantiza las modificaciones realizadas bajo condiciones normales del ensayo, de este modo, el medio de trabajo no afecte negativamente el resultado previsto.
- Porque validando garantizamos el control de los puntos críticos y evitamos el resultado erróneo de calidad en el análisis.^{29,30,31,32,33}

2.3.2.4. ¿Qué Validar?

El análisis de un método o técnica analítica realizada internamente por el laboratorio fabricante debe realizarse la validación de todo equipo, material, especificación o procedimiento que influya en la calidad final del producto:

- Los equipos.
- Las técnicas de análisis del producto terminado (no se encuentran en ninguna farmacopea de referencia: OMS, USP, BP, etc.).
- El sistema analítico global.
- Toda modificación o cambio que afecte al método o técnica, y equipo utilizado en el análisis del producto.^{29,30,31,32,33}

2.3.2.5. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Es la evidencia documentaria de todo procedimiento analítico que conlleva a un alto grado de seguridad y debe ser realizada utilizando métodos y

equipos que hayan sido verificados, de tal manera que asegure que son adecuados las especificaciones según su propósito establecido.

El laboratorio fabricante debe validar:

- Métodos no farmacopéicas o propias.
- Métodos propios desarrollados internamente.
- Ampliaciones o modificaciones de métodos farmacopéicos.
- Si se realiza algún cambio del método no estandarizado ya validado, se debe documentar toda influencia de cambio y realizar una nueva validación.

29,30,31,32,33

a) IMPORTANCIA

- Demostrar si la técnica analítica es adecuada a los análisis en las condiciones descritas por un protocolo, porque la validación es pieza clave para permitir la obtención de pruebas documentarias.
- Se trabaja con técnicas analíticas que brinden seguridad y confianza en los resultados, lo cual minimiza el número de repeticiones, fallos y errores.
- Trabajar con técnicas analíticas validadas permite cumplir con las exigencias de la BPM, con la finalidad de asegurar la eficacia y calidad del producto.^{32, 33}

b) INICIO DE UNA VALIDACIÓN

La validación se inicia con una adecuada planificación, realizada por profesionales capacitados y formalizada a través de un plan maestro.

- La planificación incluye la revisión de todos los aspectos, como la calibración de equipos, mantenimiento de máquinas, capacitación del personal a cargo y la documentación.^{28,29}

c) DOCUMENTOS DE LA VALIDACIÓN

Fundamental la documentación aplicada en la validación interviene en todos los procesos. Constan de:

- Protocolo de la validación.
- Realización de la validación.
- Evaluación de los resultados analíticos obtenidos.
- Informe de validación.
- Certificado de validación.

d) PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

Se trata del documento que se revisa y autoriza antes de ser ejecutado, se plantea el objetivo del sistema a validar, la identificación de los parámetros a utilizar, el diseño experimental y los criterios de aceptación deben ser específicos para cada producto. Además, debe estar firmado por las personas responsable de la validación y su aprobación.

El protocolo detalla el estudio integral planificado de la investigación del funcionamiento del sistema y equipo, está fundamentado de manera lógica y describe de forma completa el procedimiento, con la finalidad de demostrar documentación y asegurar la validación.⁶

e) CERTIFICADO DE VALIDACIÓN

El certificado de validación es un documento formal de aprobación, que emite el laboratorio fabricante con los resultados obtenidos para cada parámetro analizado, debe contar con las firmas de las personas responsables.^{32,33}

2.3.2.6. Datos requeridos para la validación de un método analítico

El contenido de la información del protocolo y del informe de validación debe basarse en las categorías de validación de técnicas analíticas que a continuación se menciona:

2.3.2.6.1. Categoría I:

Procedimiento analítico para la cuantificación de actividad biológica o potencia de las materias primas de productos biológicos y productos farmacéuticos (fármacos a granel o ingrediente activos incluyendo conservantes),¹⁰ que mide al analito presente en una muestra determinada.¹²

2.3.2.6.2. Categoría II:

Procedimiento analítico en la determinación de impurezas presentes en fármacos a granel o fármacos de degradación en productos farmacéuticos terminados,¹⁰ por encima o por debajo de un valor límite especificado.¹²

2.3.2.6.3. Categoría III:

Procedimiento analítico que determina las características de desempeño de un producto farmacéutico, como disolución y liberación de fármaco, entre otros.¹⁰

2.3.2.6.4. Categoría IV:

Procedimiento analítico en la identidad del analito en una muestra.¹²

2.3.2.7. Las características de desempeño analítico.

Parámetros analíticos:

- Exactitud.
- Precisión.
- Especificidad/Selectividad.
- Linealidad.
- Robustez.

Alguna autoridad reguladora hace la diferenciación entre especificidad y selectividad. La distinción refiere a la selectividad en proveer exactitud de los resultados para todos los analitos de interés, mientras la especificidad está referida a la exactitud en resultados para un analito y otros de interés pueden interferir uno con otros.¹⁴

2.3.2.7.1. Exactitud.

La exactitud del procedimiento analítico expresa la proximidad de los resultados obtenidos a través del criterio de análisis, y aceptados convencionalmente mediante un procedimiento y el valor verdadero.¹⁰

2.3.2.7.2. Precisión.

La precisión expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples, a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas.³² El método proporciona resultados próximos entre sí.¹⁰

Estudia tres niveles:

- Repetibilidad: Evalúa el método (precisión intra-ensayo).
- Precisión intermedia: Evalúa la variación de analistas, equipo y día (precisión intra-laboratorio).

- Reproducibilidad: Evalúa entre diferente laboratorio (precisión inter-laboratorios). ^{31,32,33}

2.3.2.7.3. Especificidad

Es la capacidad de evaluar la medición y/o identificación de manera inequívoca del analito en presencia de componentes presentes, tales como impurezas, productos de degradación, y componentes de la matriz. ¹⁰

Si no dispone estándares de impurezas, debe ser sometido a situaciones de estrés. El producto terminado o placebo con ingrediente farmacéutico activo, muestra tal cual es sometido a degradación como: termólisis, hidrólisis ácida, hidrólisis alcalino, oxidación con peróxido de hidrógeno. ³⁷

2.3.2.7.4. Linealidad.

La linealidad es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente (o por medio de transformaciones matemáticas) proporcionales a la concentración del analito en la muestra, dentro de un rango establecido. ¹⁰

- Linealidad del método: Estándar de analito con concentración conocida.
- Linealidad de sistema: Placebo cargado (placebo con Ingrediente Farmacéutico Activo).³⁷

2.3.2.7.5. Robustez.

La robustez de un método analítico es la medida de su capacidad para permanecer inalterado ante la presencia de pequeños cambios respecto de las condiciones de ciertos parámetros, proporcionando una idea de su fiabilidad o estabilidad durante su empleo en rutina. Es, por lo tanto, la capacidad de demostrar que el procedimiento de análisis proporciona resultados válidos durante su utilización. ³²

Tabla 1: Parámetros de Desempeño Analíticos requeridos para la Validación.

Características de desempeño analítico	CATEGORIA I	CATEGORIA II		CATEGORIA III	CATEGORIA IV
		Prueba de límite cuantitativa	Prueba de límite cualitativa		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

*Puede ser requerido dependiendo de la naturaleza de la prueba específica.

Fuente: United States Pharmacopeia National Formulary. Validación de Procedimientos Farmacopeicos USP 40. -. Estados Unidos de América. 2017. pp: 1952-1960.¹⁰

Tabla 2: Parámetros de desempeño analítico requeridos validación según (ICH).

PARAMETROS DE LA VALIDACIÓN	IDENTIFICACIÓN:	Tipos de ensayos Impurezas		VALORACIÓN:
Características		Cuantitativo – test limite		-Disolución -Potencia
Exactitud	-	+	-	+
Precisión				
Repetibilidad	-	+	-	+
Intermedia	-	+ (1)	-	+ (1)
Selectividad (2)	+	+	+	+
Límite de detección	-	+ (3)	+	-
Límite de cuantificación	-	+	-	-
Linealidad	-	+	-	+
Intervalo	-	+	-	+

(-) Significa que esta característica normalmente no se evalúa.

(+) significa que esta característica normalmente se evalúa.

(1) En los casos en que se ha realizado reproducibilidad (ver glosario), no se necesita precisión intermedia.

(2) La falta de especificidad de un procedimiento analítico podría ser compensada por otro (s) procedimiento (s) analítico (s) de respaldo.

(3) Puede ser necesario en algunos casos.

Fuente: Validación de técnicas analíticas propias del producto terminado directiva sanitaria Nº 001 Minsa /DIGEMID ³⁷

2.3.3. Espectrofotometría.

La espectrofotometría es un método que determina la concentración de un compuesto en solución. Se basa en la absorción de las radiaciones electromagnéticas y la luz absorbida depende de la forma lineal de la

concentración. Para realizar este tipo de medida se emplea un espectrofotómetro, donde se selecciona la longitud de onda de la luz a trabajar, que pase a través de la solución y se mide la cantidad de luz absorbida por la misma, basándose en la ley de Lambert-Beer.^{17,18}

2.3.3.1. Espectrofotetría Ultravioleta-visible.

Es la técnica de transición electrónica en la que la interacción entre la radiación incidente y los electrones resulta en la promoción de un estado basal a un estado de energía superior de uno o más electrones externos o de unión. La región del rango ultravioleta es de 190 a 380 nm y el rango visible es de 380 a 780 nm de acuerdo con sus longitudes de onda.⁴¹ La molécula es promovida por el paso del electrón de un orbital en estado basal (HOMO) a orbital excitado (LUMO).

Las bandas del espectro ultravioleta-visible son anchas porque se superponen a las transiciones vibracionales y electrónicas.

La excitación corresponde a los electrones de enlace, para ello, los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces. Por esta razón, la espectrofotetría ultravioleta-visible es válida para identificar grupos funcionales en una molécula.^{17,18}

2.3.3.2. Espectrofotómetro.

Deriva la palabra latina *spectrum*, que significa imagen, y de la palabra griega *photos*, que significa luz. La fuente de luz es una lámpara de bajo voltaje, la cual emite la intensidad de radiación y esta varía según la longitud de onda.²⁴



Figura 1. Diagrama esquemático del aparato usado para métodos analíticos basados en la absorción de energía radiante.

Fuente: Skoog D, Holler F, Nieman T. *Principios de Análisis Instrumental*. Quinta Edición. McGrawHill España. 2001.²⁴

Todas las mediciones del UV-Visible implican la detección y medición del cociente de intensidad de la radiación a cierta longitud de onda en presencia o ausencia de la muestra absorbente. La dispersión de luz para alcanzar la resolución deseada puede ocurrir antes o después de introducir la muestra.²⁴

Características del UV-Visible: ⁴¹

- Fuente continua.
- Monocromador o policromador.
- Área de muestreo.
- Detector.

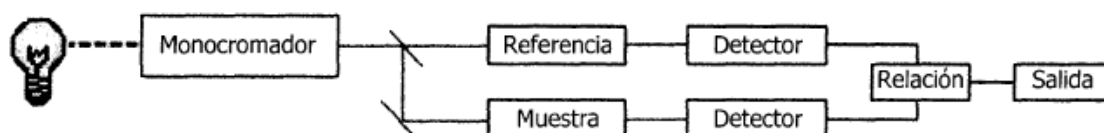


Figura 2. Representación esquemática de un espectrofotómetro de doble haz.

Fuente: United States Pharmacopeia National Formulary. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA – VISIBLE – TEORÍA y PRÁCTICA USP 40. -. Estados Unidos de América. 2017. pp: 2447-2457. ⁴¹

2.3.3.4. COMPONENTES DEL ESPECTROFOTÓMETRO.

La fuente de luz es la fuente luminosa, el monocromador (un prisma, rejilla de difracción o filtro), la luz difusa de una fuente continua pasa a través de un rayo de difracción, el cual aísla las radiaciones de las longitudes de onda deseadas a partir de las radiaciones heterocromáticas que inciden o se reflejan desde el objeto, seleccionando así una banda estrecha de longitudes de onda de luz incidente.

Esta luz monocromática atraviesa la muestra a través de una celda o cubeta permitiendo el paso de radiación en la región espectral de interés, para luego medir la potencia de radiación la luz que sale por medio de un detector.⁴²

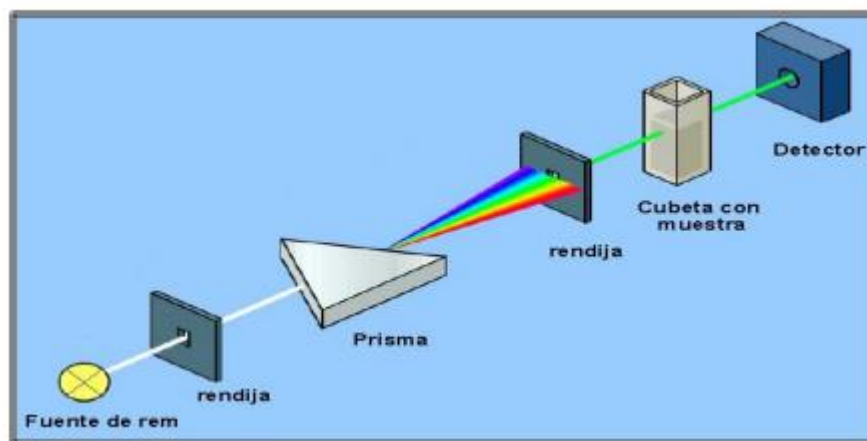


Figura 3. Esquema de la espectrofotometría UV-Visible.

Fuente: López I. (1999). Spectrophotometer, Instrument Manual. Hach Company, pag.32-41. ⁴²

2.3.3.5 ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LAS MEDICIONES DE ABSORCIÓN

2.3.3.5.1 Ley Lambert – Beer.

La Ley de Lambert-Beer se considera la relación del poder de radiación de luz incidente y la transmitida, en función a la longitud del paso óptico como la concentración de la especie solución muestra. Esta ley combinada se expresa matemáticamente: ^{17,18}

- c = concentración de la muestra en moles por litro.
- L = longitud de la trayectoria de la luz a través de la celda en centímetros.
- ϵ = absortividad molar (o coeficiente de extinción molar) de la muestra

$$A = \log_{10}(I/I_0) = \epsilon \cdot c \cdot L$$

Figura 4. Fórmula de la ley de Lambert Beer.

Fuente: Skoog. et al. Análisis instrumental. 7ª edición. México Mc Graw Hill/INTERAMERICANA DE MEXICO, S.A. DE C.V. páginas 577 y 578. ¹⁷

2.3.4 Dispositivo médico

2.3.4.1 Concepto dispositivo médico (DM)

Dispositivo médico es el instrumento, aparato, implemento, máquina, reactivo o calibrador in vitro material u otro artículo similar o relacionado,

previsto por el fabricante para ser empleado en seres humanos, solo o en combinación, como:¹³

- Diagnóstico, de prevención, monitoreo, tratamiento, alivio de una enfermedad o compensación de una lesión.
- Investigación, reemplazo, modificación o soporte de la anatomía de un proceso fisiológico.
- Soporte o mantenimiento de la vida.
- Control de la concepción.
- Desinfección de dispositivos médicos.

La industria de los dispositivos médicos constituye unas medidas de control especial de acuerdo con la clase de riesgo que aplique su uso.

En nuestro país el dispositivo médico está dentro del marco de la ley N° 29459 y esta se clasifica en cuatro niveles de riesgo y complementariamente esta directiva posee 18 reglas, la clasificación en base al riesgo facilita el control y vigilancia sanitaria para garantizar la funcionalidad, seguridad, y eficacia.¹³

2.3.4.2 Clasificaciones de dispositivos médicos

Clase I: Son dispositivos médicos de bajo riesgo, sujetos a controles generales, por no estar destinados a proteger (mantener la vida) o para el uso de importancia especial en prevención del deterioro de la salud humana.

Clase II: Son dispositivos médicos de moderado riesgo, sujeto a control especial en la etapa de fabricación para demostrar su seguridad.

Clase III: Son dispositivos **médicos de alto riesgo**, sujeto a control especial en el diseño y fabricación para demostrar su seguridad y eficacia.

Clase IV: Son dispositivos médicos de muy alto riesgo sujetos a control especial, destinados a proteger en la prevención del deterioro de la salud humana.¹³

Glutaraldehído se clasifica en la clase III, el Glutaraldehído 10,5 % solución es esterilizante y desinfectante de los artículos hospitalarios, interviene en procesos de apoyo claves que actúan directamente sobre los pacientes en el control de las infecciones nosocomiales.

2.3.5 Glutaraldehído

2.3.5.1 Resumen histórico

El glutaraldehído ha sido por más de 50 años el combate del crecimiento de microorganismos. Su actividad antimicrobial fue documentada primero en 1957 en una patente asignada a la unión Carbide Corporation referido al control de la bacteria sulfato-reductora en aguas. ^{38,39}

Estudios concernientes a organismos de interés médico, llevaron a que el material fuera rápidamente adoptado como un esterilizante para instrumentos quirúrgicos que no pueden tolerar el popular método de esterilización con vapor. En años recientes, el glutaraldehído ha sido usado para control de microorganismo en diversos ambientes como en campos de petróleo, torres de enfriamiento industrial, viviendas de animales de granja, cuartos de lavados farmacéuticos. ^{25,26,27}

2.3.5.2 Estructura química

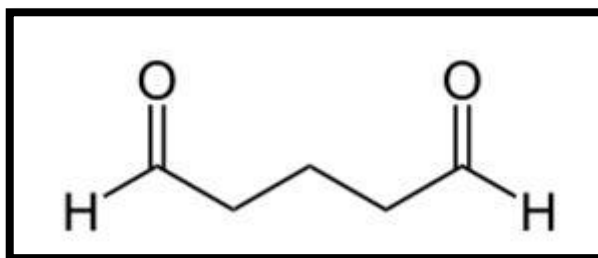


Figura 5. Formula estructural de glutaraldehído.

Fuente: Beauchamp, R. A Critical review of the toxicology of glutaraldehyde, critical reviews in toxicology, 1992. 22(3,4): 143-174. ²⁷

Entre sus propiedades Físico-Químicas se encuentran:

- Numero de CAS: 111-30-8
- Peso molecular: 100,13
- En el ambiente: Aceite soluble en agua
- Punto de fusión: -14°C
- Punto de ebullición: 187° a una presión de 760 mmHg.
- Densidad: 0,72 (agua: 1)
- Índice de refracción: 1,433 (a 25° C)
- Olor: picante

- Solubilidad: soluble en todas las proporciones benceno, agua y etanol.²³

El Glutaraldehído (1,5 pentanodial) es un compuesto dialdehído de cinco carbonos altamente reactivo.²⁷ Es uno de los más efectivos microbicidas conocidos. A través de un complejo mecanismo de reticulación, el glutaraldehído es potencialmente efectivo contra una amplia variedad de microorganismos que incluye: las bacterias Gram + y Gram -, esporas bacteriales, bacteria sulfato reductora, micobacteria, fungí, algas y virus. Este mecanismo de reticulación es influenciado por el pH, tiempo, concentración, temperatura. Esos factores también influyen la interacción del glutaraldehído con otros componentes de la matriz circundante. Es suma, esta misma química es responsable de la habilidad del glutaraldehído para reaccionar y remover las biopelículas adheridas. A través de la comprensión de estos factores, los cuales influyen la eficacia del glutaraldehído se pueden variar las condiciones para maximizar su utilidad en la aplicación deseada.^{38,39}

El glutaraldehído ejerce su actividad biocida a través de la reacción química con grupo amino en la superficie extrema de las células microbianas. Su rapidez de acción es influenciada por muchos factores, siendo el pH el más importante. Presumiblemente debido a la protonación disminuida de aminos celulares, el microbicida actúa con más rapidez a pH más alto, entre tanto, con tiempos de contacto más largo el efecto del pH es menos sensible.²³

2.3.5.3 Características de Glutaraldehído

Las soluciones acuosas de glutaraldehído son relativamente ácidas y ligeramente estables; en medio alcalino, la reactividad es más alta y llega a ser violenta a pH elevados.

Se usa Glutaraldehído como desinfectante y esterilizante en frío para instrumentos de diálisis y de cirugía, los frascos de succión, broncoscopios, endoscopias, y el instrumental de oído, nariz, y garganta.²³

2.3.5.4. Reactividad química del glutaraldehído.

La reactividad química del glutaraldehído es un reactivo difuncional que posee propiedades biocidas. Como un aldehído, el glutaraldehído puede experimentar la típica química de los aldehídos, incluyendo reacciones de oxidación, reducción y condensación. La química de productiva y la actividad antimicrobiana del glutaraldehído es basada en la habilidad de aldehídos para experimentar reacciones de alquilación. El glutaraldehído puede alquilar grupos sulfhidrilos, carboxilos, e hidroxilos. A pesar de que todos esos grupos funcionales pueden jugar un papel importante en la determinación de la actividad del glutaraldehído, aproximadamente todas las reacciones significantes comerciales de glutaraldehído pueden ser parecidas considerando su reactividad con grupos amino.^{38,39,40}

Bajo condiciones típicas de uso, la reactividad del glutaraldehído con grupos amino es principalmente con amonio y aminas primarias, la reacción con aminas secundarias, a pesar de ser muy lenta, puede ocurrir. Reacciones con aminas terciarias o sales de aminas cuaternario no han sido observadas. Además, la reactividad del glutaraldehído con las aminas está limitado a las aminas libres mas no a las que se encuentran en forma de sales.

La naturaleza difuncional de la molécula de glutaraldehído tiene una consecuencia importante: cada final de la molécula puede reaccionar químicamente con un diferente grupo amino, de forma que el glutaraldehído puede formar un puente o cross link entre esos grupos amino.³⁹

Este compuesto químico enlazador de puentes (crosslinking) une los residuos de aminas del material a enlazarse mediante formas de la naturaleza del enlazador y a las condiciones de la reacción. Los puentes enlazantes o crosslinking mostrados en la grafico 7 no implica tener alguna estructura molecular, simplemente sirve como un ejemplo de una típica reacción de enlazamiento de puentes.⁴⁰

Se ha pensado que las propiedades microbicidas del glutaraldehído surgen originalmente de su reacción con proteínas sobre ellas o cercana a la superficie de sus células.³⁹

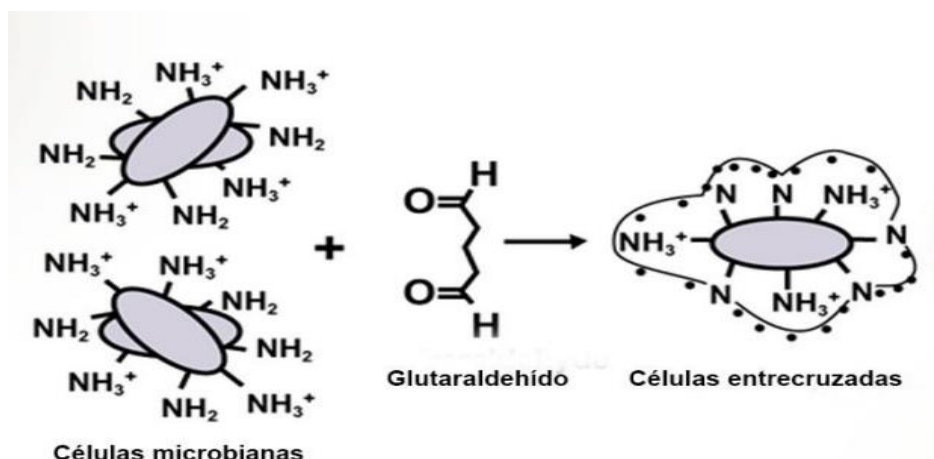


Figura 6. “Crosslinking” (formación de nuevos enlaces) entrecruzamiento de componentes celulares.

Fuente: Eagar R. G. Jr., Thels A.B. Control of Microbiological Fouling with Glutaraldehyde. Union carbide corporation publication. Bound Brook, New Jersey. USA febrero 1987.³⁹

Una variedad de estudios sobre la naturaleza del mecanismo de la reticulación (crosslinking) con glutaraldehído han explicado la base molecular de esta química. un numero de aldehídos pueden reticular grupos amino y así pueden actuar como agente biocida.^{38,39}

La estructura exacta de las paredes celulares y membranas de microorganismos varían significativamente de un tipo de organismo a otro. Independientemente del microorganismo particular que está siendo observado contienen aminoácidos; por lo tanto, contiene sitios para la reacción potencial con glutaraldehído. Los organismos con diferentes características estructurales pueden diferir en la accesibilidad de sus residuos amino; sin embargo, todos contienen alguna funcionalidad amino y son así, susceptibles al glutaraldehído.⁴⁰

2.3. FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

2.3.1. HIPÓTESIS GENERAL.

- La validación de la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5% si cumple con las exigencias de los parámetros brindada por la USP 40.

2.3.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICA.

1. El protocolo para la validación de la técnica analítica por espectrofotometría ultravioleta-visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5%, si cumple las exigencias de exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez.
2. Si existe la confiabilidad y seguridad de la validación de técnica analítica de Glutaraldehído 10,5% analizado.
3. Se demuestra la conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica en la determinación de Glutaraldehído 10,5%.

2.4. Operacionalización de variables e indicadores.

2.4.1. Variables:

VARIABLE INDEPENDIENTE: Técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa de Glutaraldehído 10,5%.

VARIABLE DEPENDIENTE: Validación.

2.4.2 Indicadores:

Variables	Indicadores
Variable independiente: Técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5%	<ul style="list-style-type: none">• Concentración• Espectrofotometría UV-Visible.• Cuantificación analítica.
Variable dependiente: Validación	Parámetros de validación: <ul style="list-style-type: none">• Exactitud• Precisión• Especificidad/Selectividad• Linealidad• Robustez

2.5. Definición de términos básicos

Analito: Sustancia (química, física o biológica) buscada o determinada en una muestra, que debe ser recuperada, detectada o cuantificada por el método.

Análisis/Prueba/Ensayo: Procedimiento o método en la determinación de una o más características de una muestra.

Criterios de aceptabilidad: Exigencias de una característica de funcionamiento o comportamiento en función de las cuales se puede determinar que un método analítico es adecuado para la finalidad perseguida y ofrece resultados confiables.

Espectrofotómetro: Es un instrumento que mide la cantidad de intensidad de luz absorbida al atravesar una solución muestra, sirve para la cuantificación e identificación.

Método oficial: Es el método especificado por los organismos reglamentarios de un país, con fines de aplicaciones de normas o estipulados por organizaciones comerciales.

Método normalizado: Método apropiado para el ensayo dentro de su alcance, publicado por organismos internacional, nacional o regional (ISO, EN, NM, etc) o por organizaciones reconocidas en diferentes ámbitos (AOAC, EPA, USP etc).

Método cualitativo: Método que permite determinar la presencia o ausencia de un analito en una muestra o matriz.

Método cuantitativo: Método que permite determinar la concentración de un analito presente en una muestra o matriz.

Protocolo de validación (técnica analítica): Conjunto de instrucciones por escrito cuyo alcance es mayor que el de un procedimiento normalizado de operación, y que describe detalladamente todos los pasos a seguir para validar un método.

Repetibilidad: Cercanía de la concordancia entre los resultados de medición sucesiva y bajo la misma condición de medición.

Reproducibilidad: Grado de concordancia relativa entre los resultados del método analítico obtenidos entre diferentes laboratorios.

Robustez: Capacidad del método analítico de producir resultados con exactitud y precisión frente a variaciones pequeñas pero deliberadas de las condiciones de operación y ambientales durante el desarrollo normal de operación.

Técnica analítica/Procedimiento analítico/Método analítico: Descripción detallada de los pasos necesarios para realizar la prueba analítica.

Valor verdadero: El grado de concordancia entre la media de un número infinito de valores reiterados de cantidad y un valor de cantidad de referencia.

Valor de referencia: Valor cuantitativo que se utiliza como base para la comparación con valores cuantitativos del mismo tipo.

Validación: Establecimiento de evidencia documental, de que un sistema, proceso, equipo, material o actividad conduce a los resultados previstos.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

La industria farmacéutica es el área dedicada a la fabricación de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos cosméticos; de alta calidad, estos son obtenidos a través de la validación. La metodología aplicada en la “validación de técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para determinación cuantitativa de glutaraldehído 10,5% solución dispositivo médico” es porque la espectrofotometría UV – Visible permite la valoración del principio activo glutaraldehído del producto en mención; es necesario tener disponible la evidencia que pruebe el método descrito en Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y considerando, la selección de una técnica analítica que incluye: exactitud, precisión, especificidad, linealidad y robustez.

3.1. Tipo y nivel de la investigación:

Es de tipo experimental – descriptivo.

- Experimental: Diseño Experimental destinado a comprobar la idoneidad del método espectrofotométrico UV-Visible para la determinación cuantitativa de Glutaraldehído 10,5 %.
- Descriptivo: Porque describe el procedimiento de la técnica analítica, a través de una validación de acuerdo con los parámetros de desempeño analítico, realizando un análisis estadístico.

Nivel transversal – correlacional.

- Transversal: Es transversal porque implica la recolección de datos en un tiempo determinado, hasta las conclusiones concretas y coherentes.
- Correlacional: Porque determina que la variable dependiente esta correlacionada a la variable independiente, se obtiene la documentación de la validación de técnica analítica en la determinación cuantitativa de glutaraldehído.

3.2. Diseño de la investigación:

Experimental: Se desea comprobar los parámetros (indicado en Farmacopea USP 40) para la realización de la validación mediante el método

espectrofotométrico UV-visible para la cuantificación de glutaraldehído 10,5% solución. Se estudia, analiza e interpreta los datos obtenidos, realizados en el laboratorio ROKER PERÚ.

3.3. Población y Muestra.

3.3.1. Población.

Glutaraldehído producto terminado 15 L.

3.3.2. Muestra.

Se ejecutó la toma y muestreo aleatorio simple, con los criterios de selección de 5 L de glutaraldehído (105 muestras analizadas) correspondiendo al 33% de la población del estudio.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

La muestra obtenida ha sido analizada con el equipo Espectrofotómetro UV-visible (marca THERMO SCIENTIFIC modelo GENESYS 10S UV-VIS), realizada en el laboratorio ROKER PERÚ; el dato obtenido fue analizado bajo los parámetros de desempeño analítico requeridos para la validación (farmacopea americana USP 40).

Para los análisis estadísticos los resultados a obtener serán sometidos a un análisis como Test T-student, Test G de Cochran, Análisis de varianza (ANOVA) y a un análisis de regresión lineal, para determinar que los valores experimentales tengan significación estadística aplicados en Excel y SPSS.

3.5. Descripción y validación de los instrumentos.

3.5.1. Reactivos:

Reactivos

- Fosfato dibásico de sodio anhidro.
- Fosfato monobásico de potasio.
- Clorhidrato de hidroxilamina.

Estándar secundario

- Glutaraldehído.

Materia prima

- Glutaraldehído.
- Poliglucósido alquilo.
- Polietilenglicol 400.
- Didecil dimetil amonio cloruro.
- Perfume Peach Stream.
- Colorante Azul FDC N°1.

3.5.2. Materiales:

- Picnómetro ISOLAB.
- Termómetro de líquido en vidrio ISOLAB.
- Fiolas x 50 mL, clase A.
- Fiolas x 100 mL, clase A.
- Fiolas x 500 mL, clase A.
- Fiola x 1000 mL, clase A.
- Pipetas volumétricas x 1 mL, clase A.
- Pipetas volumétricas x 5 mL, clase A.
- Pipetas volumétricas x 10 mL, clase A.
- Matraces volumétricos 25 mL, clase A.
- Matraces volumétricos 100 mL, clase A.
- Matraces volumétricos 200 mL, clase A.
- Matraces volumétricos 500 mL, clase A.
- Probeta 100 mL.
- Probeta 250 mL.
- Vaso precipitado 250 mL.

3.5.3. Equipos:

- Espectrofotómetro UV-Visible GENESYS 10S.
- Balanza electrónica Mettler Toledo Modelo AB204-S.
- Balanza electrónica Mettler Toledo Modelo MS105.
- Potenciómetro Mettler Toledo Modelo Seven compact.
- Estufa.

3.5.4. Procesamiento de la muestra.

3.5.4.1. Limpieza y acondicionamiento del material.

El material de vidrio utilizado para el análisis, es lavado con detergente enzimático y agua potable, enjuagado con agua purificada; por último, se agrega alcohol y es llevado a la estufa para su secado.

3.5.4.2. Cantidad de muestra a utilizar.

Aproximadamente el estándar y muestra es 4.7619 mL, este valor, al ser multiplicado por la densidad (solo en caso de muestra), generará el peso (g) por cada muestra recolectada según el parámetro a analizar.

3.6. Técnicas de procesamiento y análisis de los datos.

3.6.1. Fundamento del método.

La espectroscopia ultravioleta-visible obtiene interacción entre la radiación incidente y la nube de electrones como resultado de una transición de electrones, lo cual implica la promoción de uno o más de los electrones de la capa externa o de unión fundamental a un estado de energía más elevado, permite determinar la concentración del compuesto en solución.

3.6.2. Espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS.

El espectrofotómetro UV-Visible serie Genesys 10S UV-VIS de la marca Thermo Scientific, es un equipo que cubre un barrido de longitud de onda entre 190 – 1.100 nm, utiliza una geometría óptica de doble haz con detector interno de referencia, para obtener medidas exactas; posee un ancho de banda espectral de 1.8 nm permitiendo al sistema cumplir los requisitos, aportando más energía lumínica a la muestra y la fuente de luz es la lámpara de xenón de alta intensidad.

3.6.3. Desarrollo de la validación de la técnica analítica.

3.6.3.1. Protocolo de validación Glutaraldehído 10,5 % solución

	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE GLUTARALDEHÍDO (AQUACIDE 10.5% SOLUCIÓN)	CODIGO: PVM-09	PÁGINA 33 de 53
--	---	---------------------------	----------------------------

ÁREA: ASEGURAMIENTO DE CALIDAD - VALIDACIONES	EMISIÓN 05/01/18	VERSIÓN 01	VIGENCIA 4 AÑOS
---	---------------------	---------------	--------------------

CONTENIDO

1. Objetivo.
 2. Alcance.
 3. Responsabilidades.
 4. Justificación.
 5. Calificación instrumental.
 6. Fórmula cuali-cuantitativa del producto.
 7. Validación del método analítico.
 - 7.1 Descripción del método analítico propuesto.
 - 7.2 Reactivos.
 - 7.3 Condiciones espectrofotométrico.
 - 7.4 Procedimiento analítico.
 - 7.5 Cálculos.
 8. Desarrollo de los parámetros de validación.
 - 8.1 Precisión.
 - 8.2 Repetibilidad.
 - 8.3 Precisión Intermedia.
 - 8.4 Exactitud.
 - 8.5 Selectividad.
 - 8.6 Robustez.
 9. Tratamiento Estadístico de los Resultados.
 10. Resultados de la validación.
- Firma de los responsables del proceso de validación

DIRECTOR TÉCNICO	ASEG. DE CALIDAD	JEFE DE PRODUCCIÓN	CONTROL DE CALIDAD	MANTENIMIENTO	COORDINADOR DE VALIDACIONES

1. OBJETIVO.

Demostrar que la técnica de cuantificación del principio activo Glutaraldehído en el preparado del dispositivo médico: GLUTARALDEHIDO 10.5% (producto terminado) solución, por el método de espectrofotometría UV-Visible, cumple con las exigencias dadas por la USP con todos los parámetros de la validación, debe estar totalmente bajo control y proporcionar de forma consistente y repetitiva, los resultados analíticos confiables.

2. ALCANCE.

El protocolo describe la validación del análisis cuantitativo, empleando el método de espectrofotometría UV-Visible para el principio activo

Glutaraldehído en el dispositivo médico solución, como producto terminado en el laboratorio ROKER PERÚ: Control de Calidad.

3. RESPONSABILIDADES.

3.1. Comité de validación: Describir las funciones que realizará cada responsable del comité de validación en dicho proceso.

- **Analistas de producto terminado y materia prima:** Son los encargados de realizar los diversos análisis.
- **Coordinador de validaciones:** Es el encargado de realizar las coordinaciones con los analistas del área de control de calidad para los análisis programados, además de la recopilación de los resultados, asimismo debe emitir un reporte final de la validación de técnicas analíticas.
- **Jefe de control de calidad:** Es el responsable de que la prueba de validación se lleve a cabo y de que se proporcionen los datos respectivos.
- **Director técnico y jefe de aseguramiento de calidad:** Son los responsables del seguimiento y cumplimiento del programa de validación de proceso de manufactura.
- **Producción:** Es responsable de cumplir con lo establecido en la guía de fabricación y guía de acondicionado para el producto Aquacide 10.5% solución. correcta identificación de los lotes.
- **Control de calidad:** Realizar el análisis fisicoquímico para cada una de las muestras obtenidas en los puntos críticos para cada lote de fabricación.
- **Mantenimiento:** Es el responsable de mantener operativo y calificado todos los equipos e instrumentos de medición que forman parte de la cadena de producción.

4. JUSTIFICACIÓN.

El método por espectrofotometría UV–Visible permite la valoración del principio activo Glutaraldehído del producto en mención, es necesario tener disponible la evidencia que pruebe lo descrito por la farmacopea de americana (USP) para el glutaraldehído y sea adecuado para su uso rutinario en su verificación; de modo que su validación garantizará la confiabilidad de los resultados. Para la fórmula del dispositivo médico, de acuerdo a la clasificación de los dispositivos

médicos, el glutaraldehído se encuentra en la clase III, Glutaraldehído 10,5 % solución es esterilizante y desinfectante de los artículos hospitalarios.

Por otro lado, no se encuentra exigencias de ninguna norma a su alcance para la validación de dispositivos médicos.

5. CALIFICACIÓN INSTRUMENTAL

Los instrumentos por emplear en la validación de la técnica analítica son:

Equipos:

✓ **Espectrofotómetro**

Certificado de verificación N.º	: ICV -001 – 2018
Marca	: THERMO SCIENTIFIC
Modelo	: GENESYS 10S UV-VIS
Código	: CC- 10
Longitud de onda	
Rango	: De 190nm – hasta 1100nm
Exactitud	: ± 1 nm
Ancho de banda espectral	: 1.8 nm
Espectro fotométrico	
Transmitancia	: 0 T hasta 199.9%T
Absorbancia	: -0.300 Abs. Hasta 3.00Abs
Exactitud	: ± 0.005 Abs a 1.0Abs.
Rango de linealidad	: Hasta 3,5 A a 260 nm

✓ **Balanza electrónica Mettler Toledo Modelo MS105**

Certificado de Calibración N.º	: M014102017
Ubicación	: Área de Pesada
Capacidad máxima	: 120 g
División de escala	: 0.00001g
Tipo	: Electrónica
Fecha de calibración	: 2017- 08- 27

✓ **Balanza electrónica Mettler Toledo Modelo AB204-S**

Certificado de Calibración N.º	: M0064 2017
Fecha de calibración	: 2017-08-19.
Ubicación	: Control de Calidad
Capacidad máxima	: 220 g
División de escala	: 0.0001 g
Tipo	: Electrónica

✓ **Potenciómetro:**

Número de Certificado N.º	: A0014 2017
Código	: CC-43
Marca	: Mettler Toledo
Modelo	: Seven compact
Fecha de calibración	: 2018 – 01- 19

Materiales

a) Picnómetro.

Marca	: ISOLAB
Material	: Boro 3.3
Modelo	: 363
Capacidad nominal	: 10 mL
Calibrado	: 2017 -11 - 22

b) Termómetro de líquido en vidrio.

Marca	: ISOLAB
Rango de indicación	: 10°C a 30°C
División mínima	: 0.2 °C
Calibrado	: 22-11-2017

Cuadro 1: Lista de materiales a usar en el proceso de validación del procedimiento analítico.

Materiales	Certificado de calibración	Fecha de calibración
Matraz de 50 mL	CVU – 235 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 50 mL	CVU – 235 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 50 mL	CVU – 235 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 50 mL	CVU – 235 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 50 mL	CVU – 235 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 100 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 250 mL	CVU – 237 - 2017	22 - 12 - 2017
Matraz de 500 mL	CVU – 241 - 2017	22 - 12 - 2017
Pipeta 1 mL	CVU – 223- 2017	22 – 12- 2017
Pipeta 1 mL	CVU – 223- 2017	22 – 12- 2017
Pipeta 1 mL	CVU – 223- 2017	22 – 12- 2017
Pipeta de 10 mL	CVU - 227- 2017	22 – 12 – 2017
Pipeta de 10 mL	CVU - 227- 2017	22 – 12 – 2017
Pipeta de 10 mL	CVU - 227- 2017	22 – 12 – 2017
Pipeta de 10 mL	CVU - 227- 2017	22 – 12 – 2017
Pipeta de 10 mL	CVU - 227- 2017	22 – 12 – 2017
Vaso precipitado	No aplica	No aplica

6. FÓRMULA CUALI-CUANTITATIVA DEL PRODUCTO

Cuadro 2: PRODUCTO TERMINADO 10.5% solución, cada 100 mL contiene.

CODIGO	MATERIA PRIMA	CANTIDAD
01 - 050	Glutaraldehído	23.573 g
01 - 139	Poliglucósido alquilo	1.1 g
01 - 022	Polietilenglicol 400	3.0 g
01 - 202	Didecil dimetil amonio cloruro	0.9 g
01 - 063	Perfume Peach Stream	0.3 g
01 - 034	Colorante Azul FDC N°1	0.001 g
01 - 006	Agua Purificada c.s.p.	100.00 mL

Cuadro 3: Placebo para PRODUCTO TERMINADO 10.5% solución.

CODIGO	MATERIA PRIMA	CANTIDAD
01 - 139	Poliglucósido alquilo	1.1 g
01 - 022	Polietilenglicol 400	3.0 g
01 - 202	Didecil dimetil amonio cloruro	0.9 g
01 - 063	Perfume Peach Stream	0.3 g
01 - 034	Colorante Azul FDC N°1	0.001 g
01 - 006	Agua Purificada c.s.p	100.00 mL

7. VALIDACIÓN DE TÉCNICA ANALÍTICA

7.1. Descripción de la técnica analítica propuesta.

La técnica analítica al ser validada de un método “Farmacopeico”, para la determinación cuantitativa del principio activo: Glutaraldehído descrito en la monografía oficial como la farmacopea americana (USP 40). Para lograr la valoración del principio activo en el producto AQUACIDE 10.5% solución; este debe ser, específico, selectivo y de muy buena exactitud.

7.2. Reactivos.

Reactivos para preparar la solución amortiguadora

- Fosfato monobásico de potasio.
- Fosfato dibásico de sodio anhidro.
- Agua purificada.

Preparación del reactivo

- Solución amortiguadora.

- Clorhidrato de hidroxilamina.

Estándar.

Estándar Secundario	: Glutaral concentrado
Lote	: D681H7BD06
Fecha de Expira	: 15/10/2018
Potencia	: 50.2%

Materia prima Glutaraldehído

Potencia	: 50.0
Lote	: D681H9QD01
Fecha de Expira	: 27/03/2019
Proveedor	: DISAN PERU

7.3. Especificaciones para la cuantificación de Glutaraldehído

La especificación del contenido de glutaraldehído está basada según la Farmacopea Americana (USP 40 – año 2017).

Valoración de glutaraldehído (p/p): (100.0% - 110.0%)

7.4. Condiciones espectrofotométricas de trabajo

EQUIPO	: Espectrofotómetro
CELDA DE MUESTRA	: Cubeta de cuarzo 10 x 10 mm
LONGITUD DE ONDA	: 238 nm.
VOLUMEN POR CADA CUBA	: 3.5 mL
TRANSMITANCIA	: 0 T hasta 199.9%T
ABSORBANCIA	: - 0.300 Abs. Hasta 3.00 Abs
EXACTITUD	: \pm 0.005 Abs a 1.0Abs.

7.5. PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.

7.5.1 Preparación de las soluciones de trabajo

a) Valoración del Glutaraldehído

Contiene no menos del 100.0% y no más del 110,0% del volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído.

a.1 Solución amortiguadora:

Disolver 2.59 g de fosfato monobásico de potasio y 6,77g de fosfato dibásico de sodio anhidro en 500 mL de agua en matraz volumétrico de 1000 mL. Diluir a volumen, (Solución A).

a.2 Solución de clorhidrato de hidroxilamina:

70 ug/mL de clorhidrato de hidroxilamina en solución amortiguadora, (Solución B).

a.2.1 CÁLCULOS.

- Pesar 0,0175 g de hidroxilamina diclorhidrato en una Fiola de 250 mL, disolver en solución amortiguadora y enrasar con la misma.

a.3 Solución estándar:

50ug/mL de Glutaraldehído en agua a partir del concentrado de Glutaral.

a.3.1 CÁLCULOS.

- **Cantidad del estándar a pesar (m).**
- **Primera dilución:** Concentración a llegar 2.5 g en 100 mL

[st].....100g

[2.5]..... m

$$m(g) = \frac{[2.5] \times 100}{[st]}$$

Dónde:

[st] : Potencia del estándar (p/p).

m(g) : Peso del estándar estimado para 100 mL.

- **Segunda dilución:** Tomar 1 mL de la primera dilución y llevar a un matraz volumétrico de 500 mL y enraizar con agua purificada.

a.4 Solución blanco del estándar:

Agregar 10.0 mL de solución estándar y 10.0 mL de solución amortiguadora, a un matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua.

a.5 Solución muestra:

50ug/mL de Glutaraldehído en agua a partir de la solución desinfectante.

a.5.1 Cálculos de la muestra a pesar (g).

Datos:

Producto al 10.5 g en Glutaraldehído.

- **Primera dilución:** Concentración a llegar 0.5 g en 100 mL

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$10.5 \text{ g} \times V_1 = 0.5 \text{ g} \times 100\text{mL}$$

$$V_1 = 4.7619\text{mL}$$

$$m \text{ (g)} = 4.7619 \text{ mL} \times \rho$$

Dónde:

C₁ : Concentración del producto terminado.

V₁ : Volumen que se quiere tomar.

C ₂	: Concentración de la materia prima.
V ₂	: Volumen del lote a preparar.
m (g)	: Peso del producto a tomar.
4.7619mL	: Volumen de la muestra para encontrar 0.5 g de Glutaraldehído.
ρ	: Densidad de la muestra a pesar (g/mL).

- **Segunda dilución:** De la primera dilución tomar 1 mL y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL y enrazar con agua purificada.

a.6 Solución blanco de la muestra:

Agregar 10.0 mL de solución muestra y 10.0 mL de solución amortiguadora a un matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua purificada.

a.7 Solución blanco de reactivo:

Agregar 10.0 mL de solución amortiguadora y 10 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina a un matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua purificada.

a.8 Condiciones instrumentales:

Modo: UV

Longitud de onda analítica: 238 nm

Blanco: Soluciones blanco de reactivos

a.9 Análisis:

Muestra: Solución estándar, solución blanco del estándar, solución muestra y solución blanco de la muestra. Transferir 10.0 mL de la solución estándar y de la solución muestra a sendos matraces volumétricos de 50 mL. Agregar 10.0 mL de solución de clorhidrato de hidroxilamina a cada matraz, diluir con agua purificada, mezclar y dejar cada matraz en reposo durante 25 minutos.

Determinar concomitantemente las absorbancias de la solución estándar, solución muestra, solución blanco del estándar y solución blanco de la muestra.

a.10 Cálculo:

Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de glutaraldehído [C₅H₈O₂] en la porción de la solución desinfectante tomada.

$$glutaraldehído \% = \left[\left(\frac{A_u - a_{ub}}{A_s - A_{sb}} \right) \right] * \left(\frac{C_s}{C_u} \right) * 100$$

A_u: Absorbancia de la solución muestra.

A_{ub}: Absorbancia de la solución blanco de la muestra.

A_s: Absorbancia de la solución estándar.

A_{sb}: Absorbancia de la solución blanco del estándar.

C_s: Concentración del glutaraldehído en la solución estándar (ug/mL).

C_u: Concentración de la solución muestra.

Para reportar el % en volumen deberá hacerse uso de la densidad del producto.

a.11 Criterio de aceptación: 100.0% - 110%

a.12 Norma técnica: propia, basada en la USP 40.

a.13 Determinación de la densidad:

- 1.- Seleccionar un picnómetro de vidrio escrupulosamente limpio, el cual ha sido calibrado previamente mediante la determinación de su peso y el peso con agua recién hervida contenida en el a 25 °.
- 2.- Ajustar la temperatura del líquido aproximadamente a 25 ° y llenar el picnómetro.
- 3.- Ajustar la temperatura del picnómetro lleno a 25°, retirar todo exceso de líquido y pesar.
- 4.- Restar el peso de tara del picnómetro del peso llenado.
- 5.- La densidad se define como la masa de una unidad de volumen de la sustancia a 25° expresada en kilogramos por metro cubico o en gramos por centímetros cubico.

$$\text{Densidad } 25^{\circ}/25^{\circ} = \frac{\text{peso del picnómetro con muestra} - \text{peso de tara del picnómetro}}{\text{volumen del picnómetro utilizado}}$$

8. DESARROLLO DE LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.

8.1 ESPECIFICIDAD

Mediante este parámetro se determina la capacidad del procedimiento analítico para evaluar de manera inequívoca el analito glutaraldehído y sin interferencias de los componentes cuya presencia resulta previsible, como impurezas, productos de degradación, componentes de la matriz o reactivos utilizados durante el ensayo.

La selectividad del método se realizará comparando las valoraciones de dos muestras (cada una por duplicado), que se obtienen del placebo y del producto terminado, degradados por los diferentes procesos de degradación:

8.1.1 Procedimiento analítico:

Procedimiento

a) Valoración del glutaraldehído

Contiene no menos del 100.0% y no más del 110,0%, del volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído. (**Anexo N°1**: Representación de preparación, disolución y concentración de glutaraldehído).

- **Determinación del porcentaje de recuperación (%REC)**

$$\%REC = \frac{\text{g\% de glutaraldehído hallado}}{\text{g\% de glutaraldehído añadido}} \times 100$$

Dónde:

%REC: Porcentaje de recuperación

Muestras degradadas

Hidrólisis Alcalina:

En matraz volumétrico pesar 4.7619 mL *p de Glutaraldehído 10.5% (placebo más principio activo) agregar 3 mL de **hidróxido de sodio 0.1 N**, dejar reaccionar por 3 horas, neutralizar utilizando 3 mL de ácido clorhídrico 0.1 N y llevar a 100 mL con agua purificada, de la dilución tomar 1 mL a un matraz volumétrico de 100 mL llenar con agua purificada de dilución a tomar:

- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución amortiguadora y llevar a volumen con agua purificada (solución blanco).
- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución clorhidrato de hidroxilamina y llevar a volumen con agua purificada (solución muestra), mezclar y dejar cada matraz en reposo durante 25 minutos, transvasar a cubas de cuarzo por duplicado, determinar si hay respuesta.

Hidrólisis Ácida:

En matraz volumétrico pesar 4.7619 mL *p de Glutaraldehído a 10.5% (placebo más principio activo), agregar 3 mL de **ácido clorhídrico 0.1 N**, dejar reaccionar por 3 horas, neutralizar utilizando 3 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N y llevar a 100 mL con agua purificada, de la dilución tomar 1 mL a un matraz volumétrico de 100 mL llevar a volumen con agua, de esta última dilución tomar:

- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución amortiguadora y llevar a volumen con agua purificada (solución blanco).
- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución clorhidrato de hidroxilamina y llevar a volumen con agua purificada (solución muestra), mezclar y dejar cada matraz en reposo durante 25 minutos, transvasar a cubas de cuarzo por duplicado, determinar si hay respuesta.

Oxidación:

En matraz volumétrico de 100 mL pesar 4.7619 mL *p de Glutaraldehído 10.5% (Placebo más principio activo), agregar 2 mL **peróxido de hidrogeno 10 volúmenes** dejar reaccionar por 3 horas, llevar a volumen con agua purificada de esta dilución tomar 1 mL a un matraz volumétrico de 100 mL llevar a volumen con agua purificada tomar:

- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución amortiguadora y llevar a volumen con agua purificada (solución blanco).
- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución clorhidrato de hidroxilamina y llevar a volumen con agua purificada (solución muestra), mezclar y dejar cada matraz en reposo durante 25 minutos, transvasar a las cubas de cuarzo por duplicado, determinar si hay respuesta.

Termólisis:

En matraz volumétrico de 100 mL pesar 4.7619 mL *p de Glutaraldehído 10.5%, (Placebo más principio activo), llevar a baño maria, a una temperatura de 100 °C durante 3 horas, luego dejar que se equilibre a temperatura ambiente, llevar a volumen con agua purificada de esta dilución tomar 1 mL a un matraz volumétrico de 100 mL llevar a volumen con agua tomar:

- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución amortiguadora y llevar a volumen con agua purificada (solución blanco)
- 10 mL a un matraz de 50 mL agregar 10 mL de solución clorhidrato de hidroxilamina y llevar a volumen con agua purificada (solución muestra), mezclar y dejar cada matraz en reposo durante 25 minutos, transvasar a las cubas de cuarzo por duplicado, determinar si hay respuesta.

Nota: En caso de observar interferencias, su nivel puede evaluarse a partir del análisis de seis replicados y el grado de discrepancia entre las determinaciones en presencia o ausencia de las posibles interferencias, mediante fórmula siguiente (A.E.F.I. 2001):

$$\% \text{ de discrepancia} = \frac{(D_i - D_s)}{D_s} \times 100$$

Donde:

D_i = Respuesta media con interferencia.

D_s = Respuesta media sin interferencia.

Procedimiento analítico:

Se preparan 6 muestras de un placebo cargado y 6 de principio activo solo diluido con agua purificada. Continuar con el procedimiento del análisis. Determinar las absorbancias y con los valores obtenidos comprobar el grado de discrepancia entre las determinaciones de presencia o ausencia de los excipientes de la matriz.

8.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA.

Es la capacidad del método analítico para obtener resultados satisfactorios linealmente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un intervalo determinado, de esta manera, se halla el intervalo o el rango de trabajo. Este ensayo de linealidad puede efectuarse tanto sobre soluciones patrón del analito, como sobre muestras problemas que contengan concentraciones crecientes del analito. Se determina empleando estándares de referencia en las concentraciones de 80, 90, 100, 110 y 120 %, cada una se analizó por triplicado en sentido creciente a la absorbancia de longitud de onda de 238 nm, siendo el 100% una concentración final de 10,5 %, que corresponde a la concentración final de la muestra en el ensayo.

8.2.1 Procedimiento Analítico:

Se determina mediante la aplicación del procedimiento al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del procedimiento, y se evalúa la linealidad por el método de análisis repetitivo de cinco concentraciones diferentes conocidas, cada una por triplicado y los

resultados se expresan en porcentaje (%) de recuperación. Se preparan cinco muestras con el 80%, 90%, 100%, 110% y 120% de las concentraciones estimadas de glutaraldehído.

Cuadro 4: Pesos estimados de Glutaraldehído (Potencia: 50.0). Siendo el 100% una concentración final de 10.5% y las concentraciones conocidas.

Linealidad sistema	Glutaraldehído	Enrazado	Glutaraldehído (teórico) g%
80%	3,80952 x ρ	100	8,4
90%	4,28571 x ρ	100	9,5
100%	4,76190 x ρ	100	10,5
110%	5,23809 x ρ	100	11,6
120%	5,71428 x ρ	100	12,6

Una vez preparada las muestras determinara la densidad de cada una de ellas para determinar el peso a tomar según indica el procedimiento.

a) Valoración del glutaraldehído

Contiene no menos del 100.0% y no más del 110,0% del volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído. (**Anexo N°1:** Representación de preparación, disolución y concentración de glutaraldehído).

- **Determinación del porcentaje de recuperación (%REC)**

$$\%REC = \frac{\text{g\% de glutaraldehído hallado}}{\text{g\% de glutaraldehído añadido}} \times 100$$

Dónde:

%REC: Porcentaje de recuperación

8.3 LINEALIDAD DEL MÉTODO

Se determina el estándar de referencia más el placebo a las concentraciones de 80, 100, y 120%; siendo el 100% una concentración final de 10,5 % cada una se analizó por triplicado en sentido creciente respecto a la concentración

en medición a una longitud de onda de 238 nm.

8.3.1 Procedimiento Analítico:

Se determina la aplicación del procedimiento analítico a una mezcla sintética de los componentes del producto placebo (Cuadro 5) añadiendo cantidades conocidas del estándar glutaraldehído dentro del intervalo del procedimiento, y se evalúa la linealidad método de análisis repetitivo de tres concentraciones diferentes conocidas, cada análisis es por triplicado y los resultados se expresan en porcentaje (%) de recuperación. Se preparan tres muestras con el 80%, 100%, y 120% de las concentraciones estimadas de glutaraldehído.

Cuadro 5: Pesos estimados de Glutaraldehído 80%, 100%, y 120% de las concentraciones estimadas de glutaraldehído.

Linealidad de método	Glutaraldehído (mL)	Completar con placebo (mL)	[] Glutaraldehído (teórica) g%
80%	$3,80952 \times \rho$	100	8.4
100%	$4,76190 \times \rho$	100	10.5
120%	$5,71428 \times \rho$	100	12.6

Una vez preparada las muestras determinara la densidad de cada una de ellas para determinar el peso a tomar según indica el procedimiento.

a) Valoración del glutaraldehído

Contiene no menos del 100.0% y no más del 110,0% del volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído. (**Anexo N°1:** Representación de preparación, disolución y concentración de glutaraldehído).

8.4. PRECISIÓN

La precisión del procedimiento analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. Un estudio de precisión requiere la repetición del análisis sobre una muestra.

La precisión se distingue de dos estudios:

8.4.1 Repetibilidad:

Es la medida de la precisión de un procedimiento analítico efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y en el curso de la misma serie de análisis efectuados, generalmente en un corto intervalo de tiempo. Se prepara la muestra 6 veces, de acuerdo con el procedimiento establecido, una vez diluida tanto el estándar y la muestra tomar lectura de las absorbancias de la misma concentración que son realizados 3 veces cada una, dicho análisis debe ser realizado por el mismo analista, con los mismos instrumentos, a la misma hora en la misma serie de valoración.

8.4.2. Precisión Intermedia:

Expresa el grado de precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra, pero en diferentes días, con diferentes analistas o con equipos diferentes dentro del mismo laboratorio.

Para los fines de la presente validación otro analista, en otra fecha, usando otros instrumentos debe realizar el ensayo de repetibilidad. Se trabajará con 6 muestras tomadas de glutaraldehído 10.5%.

8.5. EXACTITUD

La exactitud indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posibles al valor verdadero. Matemáticamente la exactitud se expresa en forma de porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra o bien en forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. Una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada y revela la existencia de errores determinados que deberían corregirse.

8.5.1. Procedimiento Analítico:

Se determina mediante la aplicación del procedimiento analítico a una mezcla sintética de los componentes del producto placebo (Cuadro 2) al que se hayan añadido cantidades conocidas de analito dentro del intervalo del

procedimiento, y se evalúa la exactitud por el método de análisis repetitivo de tres concentraciones diferentes conocidas, cada una por triplicado y los resultados se expresan en porcentaje (%) de recuperación. Se preparan tres muestras con el 80%, 100%, y 120% de las concentraciones estimadas de glutaraldehído.

Cuadro 6: Pesos estimados de glutaraldehído (Potencia: 50.2%), siendo el 100% una concentración final de 10.5% y las concentraciones conocidas.

NIVEL	Glutaraldehído	Completar con placebo (mL)	[] Glutaraldehído (teórica) g%
80%	3,80952 x ρ	100	8.4
100%	4,76190 x ρ	100	10.5
120%	5,71428 x ρ	100	12.6

Una vez preparada las muestras, determinará la densidad o peso específico de cada una de ellas para determinar el peso a tomar según indica el procedimiento.

a) Valoración del glutaraldehído

Contiene no menos de 100.0% y no más de 110,0% en volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído. (**Anexo N°1:** Representación de preparación, disolución y concentración de glutaraldehído).

• Determinación del porcentaje de recuperación (%REC)

$$\%REC = \frac{\text{g\% de glutaraldehído hallado}}{\text{g\% de glutaraldehído añadido}} \times 100$$

Dónde:

%REC: Porcentaje de recuperación

8.6 ROBUSTEZ.

Es la capacidad del método analítico para permanecer inalterado ante pequeñas pero deliberadas variaciones a ciertos parámetros (factores), proporciona la idea de su fiabilidad o “estabilidad” durante su empleo en rutina.

Procedimiento analítico

Se evaluará el método analítico con modificaciones que se detallan a continuación:

Para cada factor se preparan tres muestras del producto terminado GLUTARALDEHIDO 10.5% y luego se valorará, para cada factor se obtendrán tres resultados de cada uno.

Cuadro 7: Factores de variación en el proceso de valoración de Glutaraldehído

Factor	Valor (Nominal)	Factor	Valor (alternativo)	
A	Analista 1	a	Analista 2	Efecto A
B	pH 6,5	e	pH 7,0	Efecto B
C	Cubas de cuarzo fundido de 1 pieza de 4mL	b	Cubas de cuarzo compactado de 4mL	Efecto C
D	Temperatura: 25°	d	Temperatura: 30°	Efecto D
E	Agua purificada	e	Agua destilada	Efecto E
F	Tiempo de reposo de solución muestra 25 minutos	f	Tiempo de reposo de solución muestra 20 minutos	Efecto F
G	Clorhidrato de hidroxilamina marca Baker	g	Clorhidrato de hidroxilamina marca Medrox	Efecto G

Se realizará el cálculo estadístico según el modelo factorial de **Youden – Steiner** que permite estudiar la influencia o efecto resultante de la modificación de los siete factores descritos en el método mediante ocho experimentos.

9. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

a. Determinación del Porcentaje de Recuperación:

$$\%REC = \frac{CMR}{Cantidad\ agregada} * 100$$

Donde:

% REC: Porcentaje de recuperación

CMR: Cantidad de analito hallado

b. Aplicación de test de "G" de Cochran:

Criterio de aceptación: Si el "G" experimental es menor al "G" de las tablas, para (n-1) grados de libertad y un nivel de aceptación del 95% ($p = 0.05$), entonces no existe diferencias significativas entre las variantes, recuperación media y la cantidad añadida del analito.

Cálculo de "G" experimental:

$$G_{exp} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_i^2} < G_{tabla}$$

Donde:

S_{max}^2 : Desviación estándar máximo de 3 grupos comparados.

$\sum S_i^2$: Sumatoria de las desviaciones estándar

Valores críticos para G teórica o de tablas (0.8709): (k=3, v=2, $\alpha=0.05$)

Si $G_{exp} < G_{tablas}$

c. Aplicación de test de "t" de student:

Criterio de aceptación: Si el "t" experimental es menor al "t" de las tablas, para (n-1) grados de libertad y un nivel de aceptación del 95% ($p = 0.05$), entonces no existe diferencias significativas entre la recuperación media y la cantidad añadida del analito.

Cálculo de "t" experimental:

$$t_{exp} = \frac{|100 - R_{prom}| \sqrt{n}}{CV} < t_{tabla}$$

Donde:

R : Porcentaje de recuperación promedio de todos los datos.

n : Número de mediciones: 9

CV : coeficiente de variación del total de mediciones.

Si $t_{exp} < t_{tabla(2.306)}$

d. Límite de confianza:

$$\mu = x_{prom} \pm \frac{t_{tabla} * S}{\sqrt{n}}, \text{ de los datos obtenidos: } \mu = x_{prom} \pm \frac{(2,306 * S)}{3}$$

Donde:

S : Desviación estándar.

x_{prom} : Promedio de las concentraciones encontradas.

t_{tabla} : 2.306; para n-1 grados de libertad, $\alpha=0.05$ (95% de confianza)

n : 9

e. Determinación de la Linealidad de la relación entre las concentraciones estimadas y las reales:

- **Coeficiente de correlación "r":**

El coeficiente de correlación "r", permite establecer si existe relación entre las

variables **x** (Concentración) e **y** (Respuesta).

- **Test de Hipótesis para el Coeficiente de Correlación "r":**

H₀: "r" es diferente de 1

Criterio de aceptación: "r" no debe ser significativamente diferente de 1

Cálculo de "r":

$$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

9.1 SELECTIVIDAD.

El placebo y las muestras degradadas no deben presentar ninguna interferencia en el análisis del analito (glutaraldehído), las muestras trabajadas con producto terminado deben presentar una respuesta (de la absorbancia) y las de placebo no presentar absorbancias significativas ya que estas defieren de glutaraldehído.

9.2 ROBUSTEZ.

El efecto puede considerarse significativo si excede 2 veces la desviación estándar del procedimiento, es decir, (2x S/2^{1/2}).

Por lo tanto, el efecto es significativo cuando: Efecto > 1.4 x S

Donde:

S: Desviación estándar del procedimiento original tomada de la absorbancia de control.

10. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN

PRODUCTO : GLUTARALDEHÍDO 10.5%

MÉTODO : ESPECTROFOTÓMETRO

Cuadro 8: Parámetros y criterios de aceptación de la técnica analítica a evaluar.

PARÁMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN
LINEALIDAD DE SISTEMA Ecuación de la recta * Coeficiente de correlación: r * Coeficiente de determinación: r ² * Pendiente b * Pendiente a * Intervalo de confianza para la pendiente * Intervalo de confianza para el intercepto * Coeficiente de variación LINEALIDAD DE MÉTODO Ecuación de la recta * Coeficiente de correlación: r * Coeficiente de determinación: r ² * Pendiente b * Pendiente a * Intervalo de confianza para la pendiente * Intervalo de confianza para el intercepto * Coeficiente de variación PRECISIÓN * Coeficiente de variación de la Repetibilidad Intervalos de confianza * Coeficiente de variación de la precisión Intermedia. - Test de Fisher - Límites de confianza - Porcentaje de recuperación EXACTITUD * Porcentaje de Recuperación * Coeficiente de variación * Test de Cochran: Igualdad de varianzas * Test de t de Student: diferencia de la media * Coeficiente de correlación: r SELECTIVIDAD * Respuesta del analito más placebo * Respuesta del placebo * Respuesta del solvente o diluyente * Muestra hidrólisis alcalina * Muestra hidrólisis ácida * Muestra Oxidación * muestra Termólisis ROBUSTEZ * Diseño factorial de Youden y Steiner	$y = bx + a$ $r \geq 0,9950$ $r^2 \geq 0,9900$ t pendiente > t tabla t intercepto < t tabla el intervalo debe incluir cero el intervalo no debe incluir cero $CV \leq 2 \%$ $y = bx + a$ $r \geq 0,9950$ $r^2 \geq 0,9900$ t pendiente > t tabla t intercepto < t tabla el intervalo debe incluir cero el intervalo no debe incluir cero $CV \leq 2 \%$ $CV < 2\%$ 95% confianza $CV < 2\%$ $F_{exp} < F_{tabla}$ 95% confianza 98% – 102% 98% - 102 % $CV < 2 \%$ $G_{exp} < G_{tabla}$ $t_{exp} < t_{tabla}$ $r > 0,990$ Hay respuesta No hay respuesta No hay respuesta Hay respuesta Hay respuesta Hay respuesta Hay respuesta Efecto < $\sqrt{2} \cdot S$:

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos: Resultados.

VALIDACIÓN DEL TÉCNICA ANALÍTICA

CUANTIFICACIÓN DE GLUTARALDEHÍDO 10.5%

4.1.1. ENSAYO : LINEALIDAD DE SISTEMA

Materia Prima : Glutaraldehído Equipo : Espectrofotómetro

Potencia : 50.00 % Fecha : 24/04/2018

Lote : D681H9QD01

Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 3: Tabulación de las absorbancias obtenidas, % de glutaraldehído y el % de recuperación del analito, en parámetro de linealidad de sistema (5 concentraciones)

Concentración	Muestras	Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estandar (As)	Abs de la sol. Blanco del estandar (Asb)	Concentración p/v	Concentración al 10.5%	% DE REC
80%	M 1	49.998	0.412	0.059	49.999	0.501	0.05	79.086	8.3040	98.8571
	M 2		0.414	0.057		0.499	0.043	79.121	8.3077	98.9012
	M 3		0.413	0.058		0.498	0.047	79.518	8.3434	99.3976
90%	M 1	49.998	0.57	0.054	49.999	0.632	0.049	89.668	9.4151	99.1063
	M 2		0.568	0.05		0.633	0.046	89.428	9.3900	98.8421
	M 3		0.563	0.053		0.628	0.049	89.255	9.3718	89.6505
100%	M 1	50,000	0.508	0.061	49.999	0.515	0.058	99.326	10.4293	99.3267
	M 2		0.507	0.059		0.516	0.057	99.133	10.4090	99.1333
	M 3		0.508	0.061		0.517	0.059	99.089	10.4043	99.0886
110%	M 1	50.001	0.554	0.071	49.999	0.521	0.071	109.206	11.4667	99.2788
	M 2		0.552	0.072		0.524	0.073	108.319	11.3735	98.4719
	M 3		0.553	0.071		0.522	0.074	109.467	11.4940	99.5152
120%	M 1	49.997	0.799	0.072	49.999	0.694	0.069	118.556	12.4484	98.7968
	M 2		0.798	0.073		0.690	0.070	119.207	12.5167	99.3389
	M 3		0.792	0.069		0.692	0.073	119.082	12.5036	99.2349

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsf Excel 2013).

Concentración del estándar (µg/mL): peso del estándar/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL): peso de la muestra/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído.

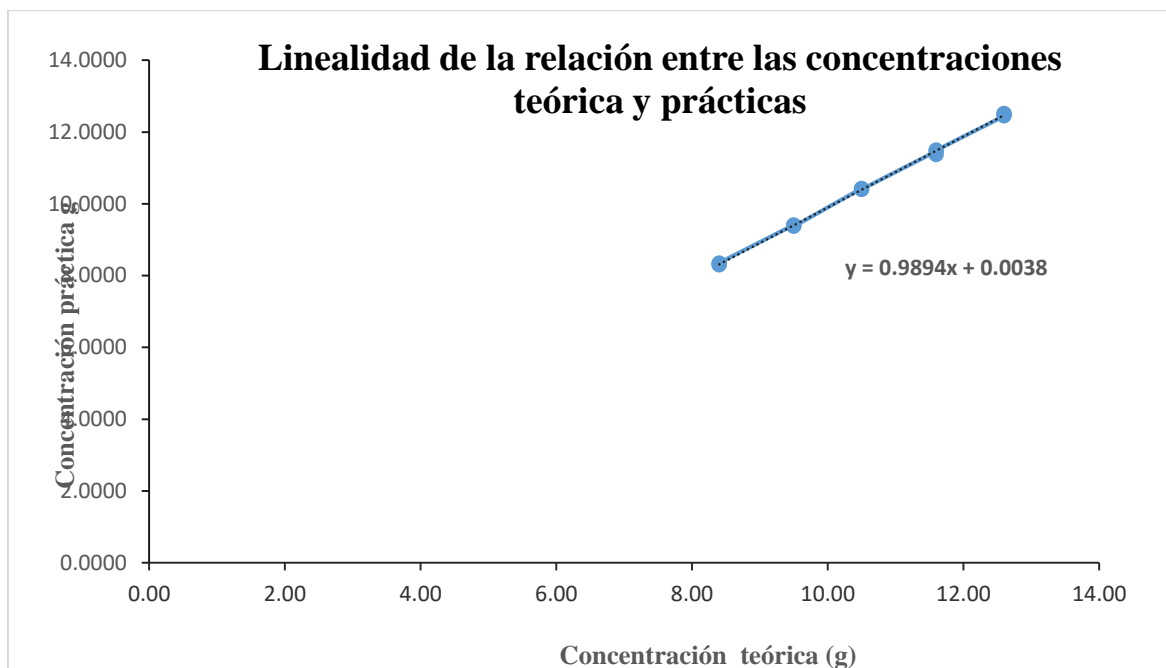


Gráfico 1: Porcentaje de concentración teórica de glutaraldehído en relación con la concentración práctica. Valoración por el método de espectrofotométrico del parámetro de linealidad de sistema.

4.1.1.1 Tratamiento estadístico de los resultados

Tabla 4: Tabulación de la concentración teórica y concentración práctica de glutaraldehído en el parámetro linealidad de sistema.

X	Y	XY	X ²	Y ²
8.40	8.3040	69.75360	70.56	68.96
8.40	8.3077	69.78468	70.56	69.02
8.40	8.3494	70.13496	70.56	69.71
9.50	9.4151	89.44345	90.25	88.64
9.50	9.3900	89.20500	90.25	88.17
9.50	9.3718	89.03210	90.25	87.83
10.50	10.4293	109.50765	110.25	108.77
10.50	10.4090	109.29450	110.25	108.35
10.50	10.4043	109.24515	110.25	108.25
11.60	11.4667	133.01372	134.56	131.49
11.60	11.3735	131.93260	134.56	129.36

11.60	11.4940	133.33040	134.56	132.11
12.60	12.4484	156.84984	158.76	154.96
12.60	12.5167	157.71042	158.76	156.67
12.60	12.5036	157.54536	158.76	156.34
ΣX_i	ΣY_i	$\Sigma(X*Y)$	$\Sigma(X)^2$	$\Sigma(Y)^2$
157.80	156.18350	1675.78343	1693	157.80

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

➤ Cálculo de la recta de regresión:

Ecuación de la recta:

$$Y = b * X + a \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

X : Concentración del analito teórica.

Y : Valor práctico de la respuesta en concentración.

b : Valor de la pendiente de la recta.

a : Valor del intercepto de la recta con el eje “y”

a. Cálculo del valor independiente o intercepto “a” de la recta trazada:

$$a = \frac{\Sigma X^2 \Sigma Y - \Sigma X \Sigma XY}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

Dónde:

(Ecuación 2)

n = 15

$$a = \frac{1.90590}{496.26}$$

$$a = 0.0038$$

b. Cálculo del valor dependiente o pendiente “b” de la recta trazada:

$$b = \frac{n \Sigma XY - \Sigma X \Sigma Y}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

Dónde:

(Ecuación 3)

$$n=15$$

$$b = \frac{490.99515}{496.26}$$

$$b = 0.98939$$

✓ **Ecuación de la recta:**

$$Y = b * X + a$$

$$Y = 0.98939 X + 0.0038$$

c. Coeficiente de correlación de Pearson: "r" (Ecuación 4)

$$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

$$r = \frac{490.99515}{491.14727}$$

$$r = 0.99969$$

Coeficiente de determinación: r^2

$$r^2 = 0.99938$$

Interpretación.

Como el coeficiente de correlación de Pearson observado en la muestra (r) es muy cercano a uno, indica una relación lineal casi perfecta entre la concentración del analito teórica y el valor práctico de la respuesta en concentración.

Test de hipótesis para demostrar regresión en función del coeficiente de correlación "r":

Para:

$H_0: r = 0$; $H_1: r \neq 0$; n-2 grados de libertad

H_0 : no hay correlación lineal entre **x** e **y**

H_1 : si presenta correlación lineal.

Si $t_{exp} > t_{tabla}$ se rechaza H_0

(Ecuación 5)

$$t_{exp} = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

$$t_{exp} = \frac{3.60443}{0.024899}$$

$$t_{exp} = 144.7575$$

t de tabla (t de student) para p=0,05 n-2=13 grados de libertad

$$t_{tabla} = 2.160$$

Interpretación:

El valor del estadístico de prueba (t=144.7575) es mayor que el "t" de la tabla, calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de significación del 5% (probabilidad de error, p =0.05), entonces si hay correlación entre "X" e "Y", dado que r es cercano a uno (r = 0.99969) decimos que la correlación es alta y directa o positiva.

Tabla 5: Concentración teórico y práctico de glutaraldehído y el factor hallado por cada intersección del parámetro linealidad de sistema

Concentración teórica (X)	Concentración práctico (Y)	Factor f= Y/X
8.4	8.304	0.9886
8.4	8.3077	0.989
8.4	8.3494	0.994
9.5	9.4151	0.9911
9.5	9.39	0.9884
9.5	9.3718	0.9865
10.5	10.4293	0.9933
10.5	10.409	0.9913
10.5	10.4043	0.9909
11.6	11.4667	0.9885
11.6	11.3735	0.9805
11.6	11.494	0.9909
12.6	12.4484	0.988
12.6	12.5167	0.9934
12.6	12.5036	0.9923
SUMA		14.6951

PROMEDIO	0.9898
DESVIACIÓN ESTANDAR (S)	0.0034
COEFICIENTE DE VARIACION (CV%)	0.3435

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Interpretación:

Dado que el coeficiente de variación es menor al 2% (cv%=0.3435%) podemos concluir que este se encuentra dentro de los valores establecidos, lo cual nos afirma que los datos obtenidos (factor Y/X) no presentan variaciones significativas.

e. Cálculo de la varianza residual o error experimental total $S^2_{x,y}$.

$$S^2_{x,y} = \frac{\sum Y^2 - a \sum Y - b \sum XY}{n - 2}$$

Dónde:

(Ecuación 6)

n : Número de muestras: 15

n-2 : Grados de libertad para un grado de significancia de 95% ($\alpha = 0,05$): 13

$$S^2_{x,y} = \frac{0.65725}{13}$$

$$S^2_{X,Y} = 0.001543$$

$$S_{X,Y} = 0.03929$$

f. Significación estadística de la varianza de la pendiente (b):

Test de hipótesis para la pendiente b:

H0: b = 0;

H1: b \neq 0; b debe ser significativamente diferente a cero.

✓ Cálculo de la varianza de la pendiente: S_b^2 :

$$S_b^2 = \frac{S^2_{X,Y}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

Dónde:

(Ecuación 7)

n (número de muestra) = 15

$$S_b^2 = \frac{0.001543}{33,084}$$

$$S_b^2 = 4.6664 - 05$$

✓ Cálculo de la desviación de estándar de la pendiente: S_b

(Ecuación 8)

$$S_b = \sqrt{S_b^2}$$

$$S_b = \sqrt{4.6664 - 05} = 0.006831$$

✓ Desviación estándar real:

(Ecuación 9)

$$S_{b\text{real}} \% = \frac{S_b}{b} * 100$$

$$S_{b\text{real}} \% = 0.00742$$

✓ Cálculo de los límites de confianza de la pendiente:

(Ecuación 10)

$$b \pm t_{\text{tabla}} * S_b$$

Donde:

t_{tabla} : 2.160 (n-2, g.l)

Límite inferior : 0.9746

Límite superior : 1.0041

✓ Cálculo del valor experimental del t student: t_{exp} :

(Ecuación 11)

$$t_{\text{exp}} = \frac{|b|}{S_b}$$

t_{exp} : 144,6356

Interpretación:

El $t_{\text{exp}} (144.63) > t_{\text{tabla}} (2.160)$; para $\alpha = 0,05$ y (n-2) grados de libertad, entonces se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se concluye que el coeficiente de regresión "b" es significativamente diferente de cero.

g. Test de proporcionalidad

Significación estadística de la varianza del intercepto “a”:

Test de hipótesis para el intercepto “a”: “a” No debe ser significativamente diferente de cero:

$$H_0: a = 0$$

$$H_1: a \neq 0;$$

✓ Cálculo de la **varianza del intercepto: S_a^2 :**

(Ecuación 12)

$$S_a^2 = S_b^2 * \frac{(\sum X)^2}{n}$$

Donde:

S_b^2 : Varianza de la pendiente “b”.

n : número de muestras = 13

$$S_a^2 = 4.66643e - 05 * \frac{(157.80)^2}{13}$$

$$S_a^2 = 0.08938$$

✓ Desviación estándar: S_a :

$$S_a = \sqrt{S_a^2}$$

$$S_a = \sqrt{0.08938} = 0.29897$$

✓ Desviación estándar real:

(Ecuación 13)

$$S_{a\text{real}} \% = \frac{S_a}{a} * 100$$

$$S_{a\text{real}} \% = -77,8446$$

✓ Cálculo de límites de confianza del intercepto:

(Ecuación 14)

$$a \pm t_{\text{tabla}} * S_a$$

Donde:

t_{tabla} : 2.160 (n-2, g.l)

Límite inferior : -0.1530

Límite superior : 0.1606

✓ Cálculo del valor experimental del t student: t_{exp} :

(Ecuación 15)

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a}$$

t_{exp} : 0,0128

Interpretación:

El $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$; para $\alpha = 0,05$ y $(n-2)$ grados de libertad, entonces no se rechaza la hipótesis nula (H_0), es decir se concluye que $a = 0$.

4.2.1 ENSAYO**: LINEALIDAD DE METODO**

Materia Prima : Glutaraldehído Equipo : Espectrofotómetro
 Potencia : 50.00 % Fecha : 27/04/2018
 Lote : D681H9QD01
 Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 6: Tabulación de las absorbancias obtenidas, % de glutaraldehído y el % de recuperación del analito en el parámetro linealidad de método (3 concentraciones).

Concentración	Muestras	Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estándar (As)	Abs de la sol. Blanco del estándar (Asb)	Concentración p/v	Concentración al 10.5%	% DE REC
80%	M1		0.412	0.057		0.502	0.053	79.888	8.3883	99.8607
	M2	49.9982	0.414	0.058	49.999	0.499	0.049	79.951	8.3949	99.9393
	M3		0.411	0.056		0.499	0.050	79.872	8.3866	99.8405
100%	M1		0.508	0.061		0.513	0.058	99.763	10.4751	99.7629
	M2	50.0003	0.509	0.060	49.999	0.512	0.056	100.008	10.5009	100.0086
	M3		0.508	0.061		0.511	0.057	99.962	10.4960	99.9619
120%	M1		0.799	0.073		0.689	0.072	119.928	12.5925	99.9405
	M2	49.9978	0.798	0.073	49.999	0.689	0.072	119.787	12.5776	99.8222
	M3		0.792	0.069		0.689	0.073	119.662	12.5645	99.7183

Concentración del estándar (µg/mL): peso del estándar/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL): peso de la muestra/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído

Fuente:Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

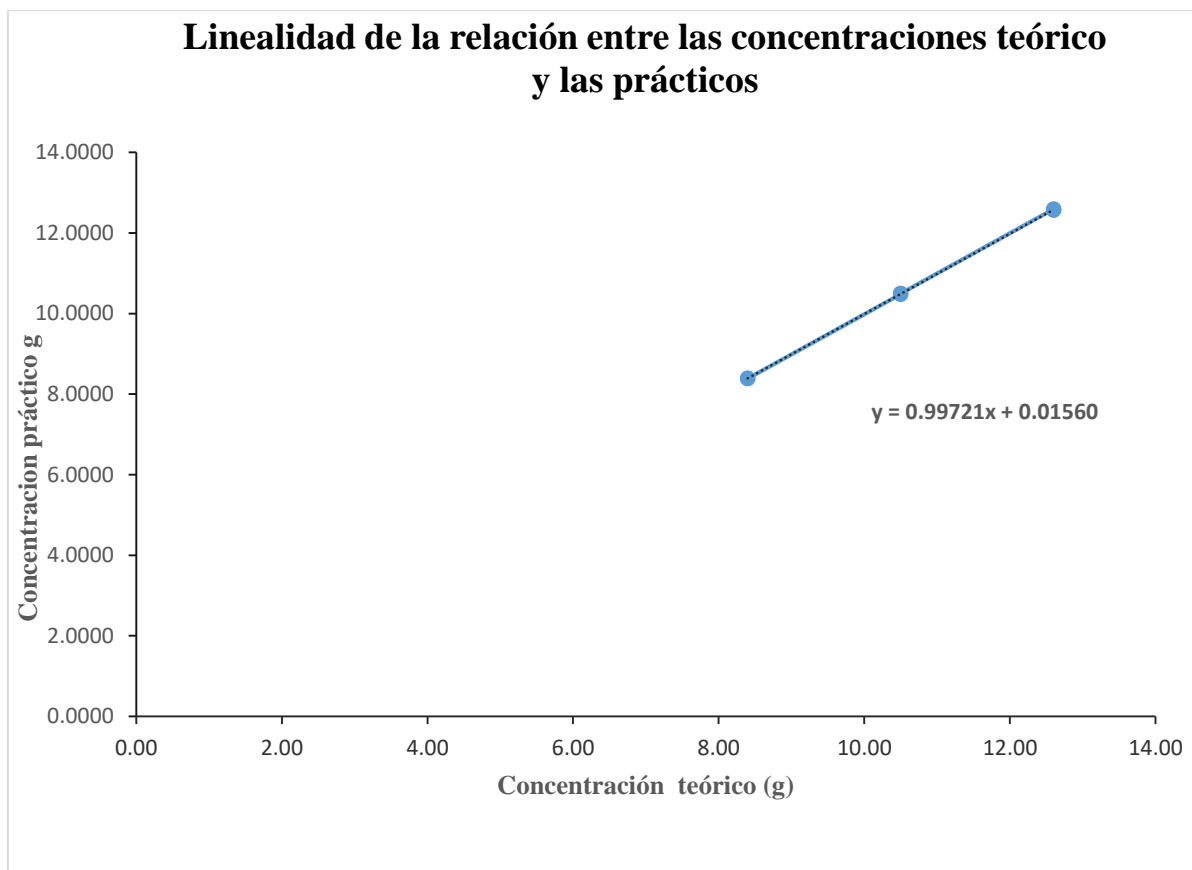


Gráfico 2: Porcentaje de concentración teórica de glutaraldehído en relación con la concentración práctica. Valoración por el método de espectrofotométrico de linealidad de método.

4.2.1.1 Tratamiento estadístico de los resultados

Tabla 7: Tabulación de la concentración teórica y práctica de glutaraldehído en el parámetro de linealidad de método.

X	Y	XY	X ²	Y ²
8.4	8.3883	70.46172	70.56	70.36
8.4	8.3949	70.51716	70.56	70.47
8.4	8.3866	70.44744	70.56	70.34
10.5	10.4751	109.98855	110.25	109.73
10.5	10.5009	110.25945	110.25	110.27
10.5	10.496	110.208	110.25	110.17
12.6	12.5925	158.6655	158.76	158.57
12.6	12.5776	158.47776	158.76	158.2
12.6	12.5645	158.3127	158.76	157.87
ΣXi	ΣYi	Σ(X*Y)	Σ(X) ²	Σ(Y) ²
94.5	94.3764	1017.33828	1019	1016

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Cálculo de la recta de regresión:

Ecuación de la recta:

$$Y = b * X + a \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

X : Concentración del analito teórico.

Y : Valor practico de la respuesta en concentración.

b : Valor de la pendiente de la recta.

a : Valor del intercepto de la recta con el eje “y”.

a. Cálculo del valor independiente o intercepto “a” de la recta trazada:

$$a = \frac{\sum X^2 \sum Y - \sum X \sum XY}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

Dónde: (Ecuación 2)

n = 9

$$a = \frac{3.71500}{238.14}$$

$$a = 0.01560$$

b. Cálculo del valor dependiente o pendiente “b” de la recta trazada:

$$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

Dónde: (Ecuación 3)

n = 9

$$b = 0.99721$$

✓ **Ecuación de la recta:** (Ecuación 1)

$$Y = b * X + a$$

$$Y = 0.99721X + 0.01560$$

c. Coeficiente de correlación: “r” (Ecuación 4)

$$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

$$r = \frac{237.47472}{237.47875}$$

$$r = 0.99998$$

Coefficiente de determinación: r^2

$$r^2 = 0.99997$$

Interpretación:

El 99.997% de la variabilidad de la concentración práctica es explicada por el modelo.

Test de hipótesis para demostrar regresión en función del coeficiente de correlación "r":

Para:

$H_0: r = 0$; $H_1: r \neq 0$; n-2 grados de libertad.

H_0 : No hay correlación entre **x** e **y**

H_1 : Presenta correlación

Si $t_{exp} > t_{tabla}$ se rechaza H_0

(Ecuación 5)

$$t_{exp} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

$$t_{exp} = \frac{2.6457}{0.005827}$$

$$t_{exp} = 454.0033$$

t de tabla para $p=0,05$ n-2 grados de libertad

$$t_{tabla} = 2.160$$

Conclusión: El valor de t experimental obtenido es mayor que el de "t" de la tabla, calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de significación del 5%

(probabilidad, $p = 0.05$), entonces si hay correlación entre "x" e "y", esta correlación lineal es alta y directa o positiva.

Tabla 8: Concentración teórica y práctica de glutaraldehído y el factor hallado por cada intersección del parámetro linealidad del método

Concentración teórica (x)	Concentración práctica (Y)	Factor Y/X
8.4	8.3883	0.9986
8.4	8.3949	0.9994
8.4	8.3866	0.9984
10.5	10.4751	0.9976
10.5	10.5009	1.0001
10.5	10.496	0.9996
12.6	12.5925	0.9994
12.6	12.5776	0.9982
12.6	12.5645	0.9972
SUMA		8.99
PROMEDIO		0.9987
DESVIACIÓN ESTANDAR (S)		0.0001
COEFICIENTE DE VARIANZA (CV)		0.097

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Interpretación: Como el valor del coeficiente de variación es menor a 2% podemos afirmar que se encuentra dentro de los valores establecidos el cual nos afirma que los datos obtenidos no presentan variaciones significativas.

e. Cálculo de la varianza residual o error experimental total $S^2_{x,y}$.

$$S^2_{x,y} = \frac{\sum Y^2 - a \sum Y - b \sum XY}{n - 2}$$

Dónde:

(Ecuación 6)

n : Numero de muestras 9

n-2 : Grados de libertad para un grado de significancia de 95% ($\alpha = 0,05$):

13

$$S_{x,y}^2 = \frac{0.00088725}{7}$$

$$S_{X,Y}^2 = 6.8250E - 05$$

$$S_{X,Y} = 0.00826$$

f. Significación estadística de la varianza de la pendiente (b):

Test de hipótesis para la pendiente b:

H0: b = 0;

H1: b ≠ 0; b debe ser significativamente diferente a cero.

✓ Cálculo de la varianza de la pendiente: **S_b²**:

(Ecuación 7)

$$S_b^2 = \frac{S_{X,Y}^2}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

Donde:

n : número de muestra: 9

$$S_b^2 = \frac{0.001543}{26.46}$$

$$S_b^2 = 3E - 06$$

✓ Cálculo de la desviación de estándar de la pendiente: **S_b**

(Ecuación 8)

$$S_b = \sqrt{S_b^2}$$

$$S_b = \sqrt{3E - 06} = 0.001606$$

Desviación estándar teórico:

(Ecuación 9)

$$S_{b \text{ real \%}} = \frac{S_b}{b} * 100$$

$$S_{b \text{ real \%}} = 0.16105$$

✓ Calculo de los límites de confianza de la pendiente:

(Ecuación 10)

$$b \pm t_{\text{tabla}} * S_b$$

Dónde:

t_{tabla} : 2.160 (n-2, g.l)

Límite inferior : 1.0024

Límite superior : 0.9920

✓ Cálculo del valor experimental del t student: t_{exp} :

(Ecuación 11)

$$t_{\text{exp}} = \frac{|b|}{S_b}$$

t_{exp} : 620.909

Interpretación:

Como el $t_{\text{exp}} > t_{\text{tabla}}$; para $\alpha = 0,05$ y (n-2) grados de libertad se rechaza la hipótesis nula (H_0), entonces “b” es significativamente diferente de cero.

g. Test de proporcionalidad

Significación estadística del intercepto “a”:

Test de hipótesis para el intercepto “a”: “a” no debe ser significativamente diferente de cero:

$H_0 : a = 0$

$H_1 : a \neq 0$

✓ Cálculo de la **varianza del intercepto: S_a^2 :**

$$S_a^2 = S_b^2 * \frac{(\sum X)^2}{n}$$

Dónde:

(Ecuación 12)

S_b^2 : Variancia de la pendiente “b”

n : número de muestras = 7

$$S_a^2 = 0.00177 * \frac{(94.50)^2}{7}$$

$$S_a^2 = 0.001772$$

✓ Desviación estándar: S_a :

(Ecuación 8)

$$S_a = \sqrt{S_a^2}$$

$$S_a = \sqrt{0.001772} = 0.0421$$

✓ Desviación estándar real:

(Ecuación 9)

$$S_{a\text{real}} \% = \frac{S_a}{a} * 100$$

$$S_{a\text{real}} \% = 7269.83$$

✓ Cálculo de los límites de confianza de la pendiente:

(Ecuación 14)

$$a \pm t_{\text{tabla}} * S_a$$

Donde:

t_{tabla} : 2.160 (n-2, g.l)

Límite inferior : -0.040

Límite superior : 0.071

✓ Cálculo del valor experimental del t student: t_{exp} :

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a}$$

t_{exp} : 00.3706

Interpretación: El $t_{\text{exp}} < t_{\text{tabla}}$; para $\alpha = 0,05$ y (n-2) grados de libertad, entonces no se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se concluye que “a” es significativamente igual de cero. Es decir, la recta de regresión pasa por el origen.

4.3.1 ENSAYO**: PRECISIÓN – REPETIBILIDAD**

Materia Prima : Glutaraldehído
 Equipo : Espectrofotómetro
 Potencia : 50.00 %
 Fecha :30/04/2018
 Lote : D681H9QD01
 Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 9: Tabulación de las absorbancias obtenidas, % de glutaraldehído y % de recuperación del analito del parámetro precisión – repetibilidad

Muestras		Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estandar (As)	Abs de la sol. Blanco del estandar (Asb)	Concentración p/v	Concentración al 10.5%	% DE REC	
ANALISTA N 1	1	M1	50	0.521	0.063	50.002	0.518	0.057	99.562	10.4540	99.5619
		M2		0.523	0.064		0.519	0.058	99.779	10.4768	99.7790
		M3		0.521	0.062		0.520	0.059	99.779	10.4768	99.7790
	2	M1	50	0.524	0.067	49.999	0.512	0.053	99.815	10.4806	99.8152
		M2		0.525	0.069		0.514	0.059	100.469	10.5492	100.4686
		M3		0.52	0.065		0.51	0.053	99.810	10.4800	99.8095
	3	M1	50	0.522	0.065	50.000	0.515	0.054	99.341	10.4308	99.3410
		M2		0.523	0.065		0.514	0.055	99.992	10.4991	99.9914
		M3		0.524	0.067		0.514	0.055	99.773	10.4762	99.7733
	4	M1	50	0.522	0.060	50.002	0.520	0.056	99.792	10.4782	99.7924
		M2		0.521	0.062		0.520	0.056	99.144	10.4101	99.1438
		M3		0.521	0.059		0.520	0.056	99.792	10.4782	99.7924
	5	M1	50	0.524	0.067	49.999	0.512	0.053	99.772	10.4760	99.7714
		M2		0.523	0.066		0.512	0.053	99.772	10.4760	99.7714
		M3		0.52	0.065		0.512	0.057	100.208	10.5219	100.2086
	6	M1	50	0.524	0.067	50.000	0.513	0.054	99.803	10.4793	99.8029
		M2		0.523	0.069		0.509	0.053	99.800	10.4790	99.8000
		M3		0.523	0.068		0.513	0.054	99.366	10.4335	99.3667

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Concentración del estándar (µg/mL): 2.5g/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL) : 0.5g/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído.

4.3.1.1. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.

Tabla 10: Promedio de las concentraciones obtenidas y % de recuperación por cada muestra de trabajo del parámetro de precisión – repetibilidad

Muestra		REPETIBILIDAD	PROMEDIO TOTAL	Xi-Xpromedio
		Xi	(Xpromedio)	
ANALISTA 1 (DIA 1)	1	10.4692	99.7066	0.0061
	2	10.5033	100.0311	-0.0279
	3	10.4687	99.7019	0.0066
	4	10.4555	99.5762	0.0198
	5	10.4913	99.9171	-0.016
	6	10.4639	99.6565	0.0114
		ΣXi	Xpromedio	$\Sigma (Xi - Xpromedio)$
		62.8519	10.4775	3.55E-15

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

✓ **Promedio:**

(Ecuación 16)

$$\text{Promedio} = X_{prom} = \frac{\sum_{i=1}^N X}{n} = 10.4775$$

Donde:

n : número de muestras 6

✓ **Desviación estándar:**

(Ecuación 17)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Xi - Xprom)^2}{n - 1}}$$

$$S = 0.01811$$

✓ **Coeficiente de variación %CV:**

(Ecuación 18)

$$CV = \frac{S * 100}{Xprom}$$

$$CV = 0.1729\%$$

✓ **Intervalo de confianza:**

Intervalo de confianza del 95% de los resultados promedio: (Ecuación 19)

($\mu = X_{prom} \pm \frac{t_{tabla} \cdot S}{\sqrt{n}}$), de los datos obtenidos: $\mu = 10.4775 \pm \frac{(2.571 \times S)}{2.4495}$

Dónde:

μ : Es el promedio de las concentraciones que deseamos estimar mediante un intervalo (Parámetro desconocido).

S: Desviación estándar.

\bar{X} prom: Promedio de las concentraciones encontradas en las muestras.

t_{tabla} = 2.571; para n-1 grados de libertad, $\alpha = 0.05$

Tabla 11: Resultados estadísticos para la repetibilidad del parámetro de precisión de la técnica analítica de acuerdo con los datos de la tabla 9; obtenidos del tratamiento estadístico para las 18 muestras para determinar glutaraldehído.

Parámetros estadísticos	Resultados
Número de determinaciones (n)	6
Grados de libertad(g.l)	5
Promedio	10.4753
Desviación estándar (s)	0.0181
Desviación estándar relativa (%CV)	0.1729%
alfa (α)	0.05
t student TABLA	2.571
Intervalo de confianza alfa=0.05 \pm	0.0145
Intervalo de confianza	10.456 – 10.494

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Interpretación:

El coeficiente de variación para la concentración encontrada en las muestras (C.V %= 0.1729%) es menor al 2% por lo tanto se encuentra dentro de los valores establecidos. El método demuestra que la precisión es adecuada ya que presenta una mínima variación en la reproducción de los resultados, el intervalo para el promedio de las concentraciones al 95% de confianza tiene una amplitud bastante reducida (10.456 – 10.494).

4.4.1 ENSAYO

Materia Prima

Equipo

Potencia

Lote

Analista

: PRECISIÓN INTERMEDIA.

: Glutaraldehído

: Espectrofotómetro

: 50.00 %

: D681H9QD01

: Elizabeth Canaza Luque

: Q.F Ana María Muñoz Lagos

Fecha: 30/04/2018

Fecha: 02/05/2018

Tabla 12: Verificación del producto glutaraldehído día 1 y 2 (diferente analista), del parámetro de precisión intermedia de acuerdo con la técnica analítica

Muestras		Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estandar (As)	Abs de la sol. Blanco del estandar (Asb)	Concentración p/v	Concentración al 10.5%	% DE REC	
ANALISTA Nº 1 (DÍA 1)	1	M1	50	0.521	0.063	50.002	0.518	0.057	99.562	10.454	99.5619
		M2		0.523	0.064		0.519	0.058	99.779	10.476	99.7790
		M3		0.521	0.062		0.520	0.059	99.779	10.476	99.7790
	2	M1	50	0.524	0.067	49.999	0.512	0.053	99.815	10.480	99.8152
		M2		0.525	0.069		0.514	0.059	100.469	10.549	100.4686
		M3		0.52	0.065		0.510	0.053	99.810	10.480	99.8095
	3	M1	50	0.522	0.065	50.000	0.515	0.054	99.341	10.430	99.3410
		M2		0.523	0.065		0.514	0.055	99.992	10.499	99.9914
		M3		0.524	0.067		0.514	0.055	99.773	10.476	99.7733
	4	M1	50	0.522	0.06	50.002	0.520	0.056	99.792	10.478	99.7924
		M2		0.521	0.062		0.520	0.056	99.144	10.410	99.1438
		M3		0.521	0.059		0.520	0.056	99.792	10.478	99.7924
	5	M1	50	0.524	0.067	49.999	0.512	0.053	99.772	10.476	99.7714
		M2		0.523	0.066		0.512	0.053	99.772	10.476	99.7714
		M3		0.52	0.065		0.512	0.057	100.208	10.521	100.2086
	6	M1	50	0.524	0.067	50.000	0.513	0.054	99.803	10.479	99.8029
		M2		0.523	0.069		0.509	0.053	99.800	10.479	99.8000
		M3		0.523	0.068		0.513	0.054	99.366	10.433	99.3667
ANALISTA Nº 2 (DÍA 2)	1	M1	49.997	0.524	0.067	50.000	0.517	0.057	99.621	10.460	99.6210
		M2		0.522	0.065		0.518	0.058	99.621	10.460	99.6210
		M3		0.524	0.066		0.516	0.057	100.057	10.059	100.0562
	2	M1	49.998	0.521	0.06	50.000	0.519	0.054	99.371	10.433	99.3705
		M2		0.52	0.058		0.515	0.048	99.160	10.411	99.1600
		M3		0.521	0.064		0.516	0.057	99.846	10.483	99.8457
	3	M1	50.001	0.523	0.067	50.002	0.516	0.058	99.764	10.475	99.7638
		M2		0.524	0.065		0.516	0.055	99.767	10.475	99.7667
		M3		0.521	0.063		0.516	0.055	99.549	10.452	99.5495
	4	M1	49.999	0.523	0.064	50.002	0.518	0.057	99.811	10.480	99.8105

	M2		0.522	0.063		0.518	0.056	99.594	10.457	99.5943
	M3		0.52	0.062		0.518	0.058	99.810	10.480	99.8095
	M1		0.521	0.060		0.516	0.052	99.625	10.460	99.6248
5	M2	49.998	0.522	0.061	50	0.516	0.053	99.840	10.483	99.8400
	M3		0.523	0.062		0.516	0.052	99.619	10.460	99.6190
	M1		0.521	0.062		0.512	0.051	99.844	10.483	99.8448
6	M2	50	0.52	0.058	50	0.512	0.048	99.847	10.484	99.8476
	M3		0.524	0.067		0.512	0.053	99.842	10.483	99.8426

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Concentración del estándar (µg/mL): 2.5g/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL): 0.5g/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído

4.4.1.2. CÁLCULOS:

✓ **Cálculos de la concentración de Glutaraldehído en cada ensayo.**

$$g\% = \left(\frac{Au - Aub}{As - Asb} \right) \times \left(\frac{Cs}{Cu} \right) \times 100$$

Dónde:

Au: Absorbancia de la solución de la muestra.

Aub: Absorbancia de la solución blanco de la muestra.

As: Absorbancia de la solución estándar.

Asb: Absorbancia de la solución blanco del estándar.

Cs: Concentración del Glutaraldehído en la solución estándar (ug/mL)

Cu: Concentración de la solución de muestra

5.5.3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.

Tabla 13: Concentraciones obtenidas por cada muestra de trabajo (analistas diferentes) del parámetro precisión intermedia.

Muestra		Concentración g%
Analista 1 (día 1)	1	10.4692
	2	10.50327
	3	10.4687
	4	10.4555
	5	10.4913
	6	10.46393
Analista 2 (día 2)	1	10.47543
	2	10.44317
	3	10.4678

4	10.4725
5	10.46793
6	10.48373

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microst Excel 2013).

Cálculos:

✓ Promedio:

(Ecuación 16)

$$X_{\text{promedio}} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{n}$$

Donde:

n : número de muestras: 36

✓ Desviación estándar:

(Ecuación 17)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_{\text{prom}})^2}{n - 1}}$$

✓ Coeficiente de variación %CV:

(Ecuación 18)

$$CV = \frac{S * 100}{X_{\text{prom}}}$$

✓ Intervalo de confianza del 95% de los resultados promedio:

Tabla 14: Resultado estadístico para la precisión Intermedia de la técnica analítica. De acuerdo con los datos de la tabla 12 para el glutaraldehído en análisis SPSS.

	Media	Desviación estándar	C.V %	95% del intervalo de confianza para la media	
				Límite inferior	Límite superior
Analista 1	10.4753	0.0181	0.1729%	10.4563	10.4943
Analista 2	10.4684	0.0137	0.1309%	10.4541	10.4828
Total	10.4719	0.0157	0.1502%	10.4619	10.4819

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

La tabla 14 nos muestra las estadísticas descriptivas de la concentración del glutaraldehído obtenida por cada analista en días diferentes, tenemos en el caso del analista 1 obtuvo una concentración promedio del glutaraldehído de 10.4753 el cual es muy similar al obtenido por el analista 2, además se presentan los intervalos estimados para dichos promedios al 95% de confianza, cabe resaltar la escasa variabilidad de los resultados obtenida cuando se combinan ambas mediciones ($CV\% = 0.1502\%$).

Tabla 15: Aplicación del test estadístico ANOVA de acuerdo al análisis de glutaraldehído parámetro precisión intermedia.

Ho: Las concentraciones promedio de ambos analistas son iguales.

H1: Las concentraciones promedio de ambos analistas son diferentes.

ANOVA: Concentración del Glutaraldehído

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p valor
Entre grupos	.00014	1	.00014	.55226	.47449
Dentro de grupos	.00258	10	.00026		
Total	.00272	11			

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

$$F_{\text{tabla}} = 4.96460274$$

$$F_{\text{exp}} = 0.55226$$

$F_{\text{exp}} < F_{\text{tabla}}$, se acepta Ho, por lo que los resultados promedios obtenidos por ambas analistas no difieren estadísticamente.

Tabla 16: Resultado estadístico del parámetro de precisión Intermedia: comparación de varianzas y promedios.

✓ Prueba de Levene de igualdad de varianzas:

Ho: las varianzas de las concentraciones obtenidas por ambos analistas son iguales.

H1: las varianzas de las concentraciones obtenidas por ambos analistas son diferentes.

✓ **Prueba t para la igualdad de medias:**

Ho: las concentraciones promedio de ambos analistas son iguales.

H1: las concentraciones promedio de ambos analistas son diferentes.

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias			
		F	(p valor	t	gl	(p valor)	Diferencia de medias
Concentración del Glutaraldehído	Se asumen varianzas iguales	1.241	.291	.743	10	.474	.00689000

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

Como el p valor de la igualdad de varianzas (p valor = 0.291) es mayor a 0.05 se concluye que las varianzas son homogéneas, la prueba T también muestra un p valor mayor a 0.05 (p valor = 0.474) con lo cual se acepta las concentraciones promedio de ambos analistas son iguales, (lo confirma el resultado mostrado en la prueba ANOVA). Las concentraciones de glutaraldehído obtenidas por los analistas presentan una homogeneidad en sus varianzas con igualdad de medias. (no se observa diferencias estadísticas significativas).

Tabla 17: Resultado estadístico del parámetro de precisión Intermedia, aplicando SPSS de acuerdo al porcentaje de límites de confianza (recuperación).

Porcentaje de recuperación					
	Media	Desviación estándar	C.V %	95% del intervalo de confianza para la media	
				Límite inferior	Límite superior
Analista 1	99.7649	0.1725	0.1729%	99.5839	99.9459
Analista 2	99.6993	0.1305	0.1309%	99.5624	99.8363
Total	99.7321	0.1498	0.1502%	99.6369	99.8273

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

Los porcentajes de recuperación obtenidos por los analistas presentan la misma variabilidad que las concentraciones ($cv\%=0.1502\%$). Las concentraciones de glutaraldehído obtenidas por los analistas presentan una homogeneidad en sus varianzas con igualdad de medias. (no se observa diferencias estadísticas significativas), además se observa que los porcentajes de recuperación de ambos analistas y de sus resultados combinados se encuentran dentro de los rangos establecidos por la USP 40.

4.5.1 ENSAYO : EXACTITUD

Materia Prima : Glutaraldehído Equipo: Espectrofotómetro
Potencia : 50.00 % Fecha : 07/05/2018
Lote : D681H9QD01
Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 18: Tabulación de datos obtenidos de la cuantificación del agregado en el placebo y el % de recuperación de glutaraldehído en cada grupo de concentración de muestra, para el parámetro de exactitud.

	MUESTRA	Concentración Teórica	Concentración práctica	Glutaral + placebo	%REC
1	M 1 - 80%	8.4	8.3902	8.38	99.8833
	M 2 - 80%	8.4	8.3705		99.6488
	M 3 - 80%	8.4	8.3925		99.9107
2	M 1 - 100%	10.5	10.4317	10.46	99.3495
	M 2 - 100%	10.5	10.4738		99.7505
	M 3 - 100%	10.5	10.478		99.7905
3	M 1 - 120%	12.6	12.5462	12.56	99.5730
	M 2 - 120%	12.6	12.5623		99.7008
	M 3 - 120%	12.6	12.5635		99.7103

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsof Excel 2013).

*%REC: Porcentaje de recuperación de Glutaraldehído

Concentración del estándar (µg/mL): 2.5g/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL): 0.5g/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50 ug/mL de glutaraldehído

4.5.1.1. CÁLCULOS:

✓ **Cálculos de la concentración de Glutaraldehído en cada ensayo.**

$$✓ \quad g\% = \left(\frac{Au - Aub}{As - Asb} \right) \times \left(\frac{Cs}{Cu} \right) \times 100$$

✓ Dónde:

Au: Absorbancia de la solución de la muestra.

Aub: Absorbancia de la solución blanco de la muestra.

As: Absorbancia de la solución estándar.

Asb: Absorbancia de la solución blanco del estándar.

Cs: Concentración del Glutaraldehído en la solución estándar (ug/mL)

Cu: Concentración de la solución de muestra.

✓ **Cantidad de muestra recuperada: %REC.**

$$\%REC = \frac{\% \text{ de Glutaraldehído hallado}}{\% \text{ Glutaraldehído añadido}} \times 100$$

Donde:

%REC : Porcentaje de recuperación (ver tabla 8)

Concentración de glutaraldehído añadido: 8.4, 10.5 y 12.6 g%

3.5.2. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO:

a) Promedio:

(Ecuación 16)

$$X_{promedio} = \frac{\sum_{i=1}^N X}{n}$$

b) Desviación estándar:

(Ecuación 17)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_{prom})^2}{n - 1}}$$

c) Coeficiente de variación:

(Ecuación 18)

$$CV = \frac{S * 100}{X_{prom}}$$

d) Aplicación de test de Cochran "G".

(Ecuación 20)

$$G_{exp} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_i^2} < G_{tabla}$$

Donde:

S_{max}^2 : Desviación estándar máximo de 3 grupos comparados.

$\sum S_i^2$: Sumatoria de las desviaciones estándar.

Valores críticos para G teórica o de tablas: (k=3, v=2, $\alpha=0.05$)

Si $G_{exp} < G_{tabla}$

Tabla 19: Resultado de la aplicación de test de Cochran “G” de acuerdo con la tabla 18 para el parámetro de exactitud.

MUESTRAS	VARIANZA DE LA MUESTRA	TEST DE COCHRAN	G TEORICA
M-80%	0.0207	0.6909	0,8709
M-100%	0.05947		
M-120%	0.0059		

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

e) Test de Student.

(Ecuación 21)

$$t_{exp} = \frac{|100 - R_{prom}| \sqrt{n}}{CV} < t_{tabla}$$

Donde:

R_{prom}	: 99.7019	promedio porcentual recuperado
$t_{tabla(n-1)}$: 2.306	
CV	: 0.1702	Coefficiente de variación porcentual
n	: número de muestras =	3
n-1	: grados de libertad =	2
t_{exp}	: 3.03301	
t_{tab}	: 4.3026	

Interpretación: Como t_{exp} (3.03301) < t_{tab} (4.3026) entonces se cumple con el criterio.

f.) Limite de confianza.

(Ecuación 19)

$$\mu = x_{prom} \pm \frac{t_{tabla} * S}{\sqrt{n}}, \text{ de los datos obtenidos: } \mu = x_{prom} \pm \frac{(2.306 * S)}{3}$$

Donde:

S	: Desviación estándar.
x_{prom}	: Promedio de las concentraciones encontradas.
t_{tabla}	: 2.306; para n-1 grados de libertad, $\alpha = 0.05$ (95% de confianza)

n :9

Límite superior: 100.124 %

Límite inferior: 99.28%

g) Determinación de la linealidad de la relación entre las concentraciones prácticas y las reales:

- **Coeficiente de correlación "r":** (Ecuación 4)

$$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$
$$r = \frac{1256.4804}{1256.5017}$$

$r = 0.99998$; existe relación entre las variables **X** (Concentración) e **Y** (Respuesta).

- **Test de Hipótesis para el Coeficiente de Correlación "r":**

r: no es significativamente diferente de uno. Existe correlación entre el valor obtenido y el valor verdadero.

Tabla 20: Resultado estadístico del parámetro de exactitud. Recuperación del analito; de acuerdo con los datos de la tabla 8 para las diferentes muestras enriquecidas con analito (glutaraldehído en el placebo), a concentraciones conocidas.

PARÁMETRO	RESULTADOS
Número de determinaciones	9
Grados de libertad	8
Valor promedio	99.8656
Desviación estándar	0.2059
Desviación estándar relativa (CV)	0.2062
Alfa	0.05
Intervalo de confianza del promedio (expresar límite superior y límite inferior)	99.707 a 100.024
t student (tablas)	2.306
El porcentaje de recuperación se encuentra dentro del 98 a 102%	SI >98%

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Interpretación:

Al ser $G_{\text{exp}} (0.6909) < G_{\text{tabla}} (0.8709)$ no existe diferencia significativa entre las variantes de la valoración de las muestras a 80, 100 y 120%, por lo que la exactitud es correcta.

Al ser $t_{\text{exp}} (3.03301) < t_{\text{tabla}} (4.3026)$ no existe diferencia significativa entre la recuperación media y el 100%, por lo que la exactitud es correcta.

La recuperación de Glutaraldehído es de 99.8656% y además su estimación interválica 99.707 a 100.024 al 95% de confianza está dentro del criterio de aceptación 98 % – 102%.

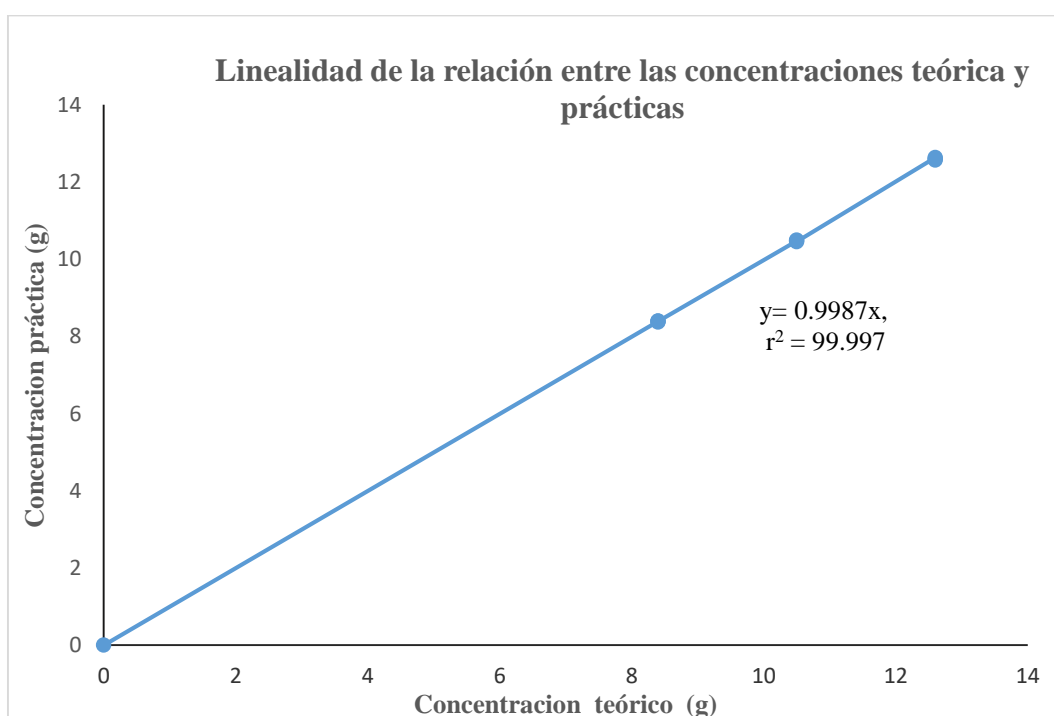


Gráfico 3: Concentración de glutaraldehído encontrada en la práctica de acuerdo a las muestras preparadas a diferentes concentraciones en relación con concentración teórica de glutaraldehído del parámetro exactitud.

Interpretación: En la muestra existe una casi perfecta relación lineal directa o positiva entre la concentración real (teórico) del glutaraldehído y la concentración estimada (práctica), es decir por cada gramo en que se incrementa la concentración real se espera que la concentración estimada (práctica) aumente en 0.9987 (g).

De otro lado el 99.997% de la variabilidad observada en las concentraciones estimadas se debe a los valores de la concentración real.

4.6.1 ENSAYO**: SELECTIVIDAD**

Materia Prima : Glutaraldehído Equipo : Espectrofotómetro

Potencia : 50.00 % Fecha : 19/04//2018

Lote : D681H9QD01

Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 21: Resultado del parámetro de selectividad. De acuerdo al estrés sometido a las muestras (analito más placebo) y placebo solo.

Muestras	Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estándar (As)	Abs de la sol. Blanco del estándar (Asb)	Concentración p/v	Concentración práctica 10.5%	% DE REC
AQUACIDE 10.5%	49.999	0.521	0.063	50.001	0.518	0.057	99.55	10.453	99.55
		0.522	0.064		0.519	0.058	99.55	10.453	99.55
		0.524	0.066		0.519	0.058	99.59	10.457	99.59
		0.521	0.062		0.520	0.059	99.77	10.476	99.77
PLACEBO	0	0	0	49.999	0.509	0.055	0	0	0
		0	0		0.508	0.054	0	0	0
		0	0		0.510	0.058	0	0	0
		0	0		0.509	0.055	0	0	0
BLANCO	0	0	0	50.000	0.508	0.054	0	0	0
		0	0		0.508	0.054	0	0	0
		0	0		0.507	0.056	0	0	0
		0	0		0.508	0.054	0	0	0
HIDROLISIS ALCALINA	50.001	0.395	0.089	50.002	0.466	0.066	76.66	8.0501	76.66
		0.390	0.088		0.464	0.067	76.22	8.0041	76.22
		0.388	0.086		0.465	0.068	76.23	8.0049	76.23
		0.393	0.089		0.467	0.066	75.97	7.9775	75.97
HIDROLISIS ACIDA	50.001	0.484	0.076	49.999	0.466	0.056	99.72	10.470	99.72
		0.482	0.072		0.467	0.055	99.75	10.474	99.75
		0.485	0.070		0.470	0.054	99.96	10.496	99.96
		0.482	0.072		0.469	0.055	99.24	10.420	99.24
TERMOLISIS	50.001	0.553	0.060	50.000	0.463	0.065	124.1	13.037	124.1
		0.556	0.065		0.463	0.065	123.6	12.984	123.6
		0.552	0.063		0.463	0.065	123.1	12.931	123.1
		0.548	0.062		0.463	0.065	122.4	12.852	122.4
OXIDACIÓN	49.999	0.466	0.070	50.001	0.463	0.065	99.73	10.472	99.73
		0.464	0.068		0.462	0.064	99.73	10.472	99.73
		0.469	0.072		0.463	0.063	99.48	10.446	99.48
		0.468	0.072		0.464	0.066	99.73	10.472	99.73

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microst Excel 2013).

*%REC: Porcentaje de recuperación de glutaraldehído

Concentración del estándar (µg/mL): 2.5g/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL) : 0.5g/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído.

4.6.1.1 CÁLCULOS

✓ Cálculos de la concentración de glutaraldehído en cada ensayo.

$$g\% = \left(\frac{Au - Aub}{As - Ash} \right) \times \left(\frac{Cs}{Cu} \right) \times 100 * \text{densidad}$$

✓ Dónde:

Au: Absorbancia de la solución de la muestra.

Aub: Absorbancia de la solución blanco de la muestra.

As: Absorbancia de la solución estándar.

Asb: Absorbancia de la solución blanco del estándar.

Cs: Concentración del glutaraldehído en la solución estándar
(ug/mL)

Cu: Concentración de la solución de muestra.

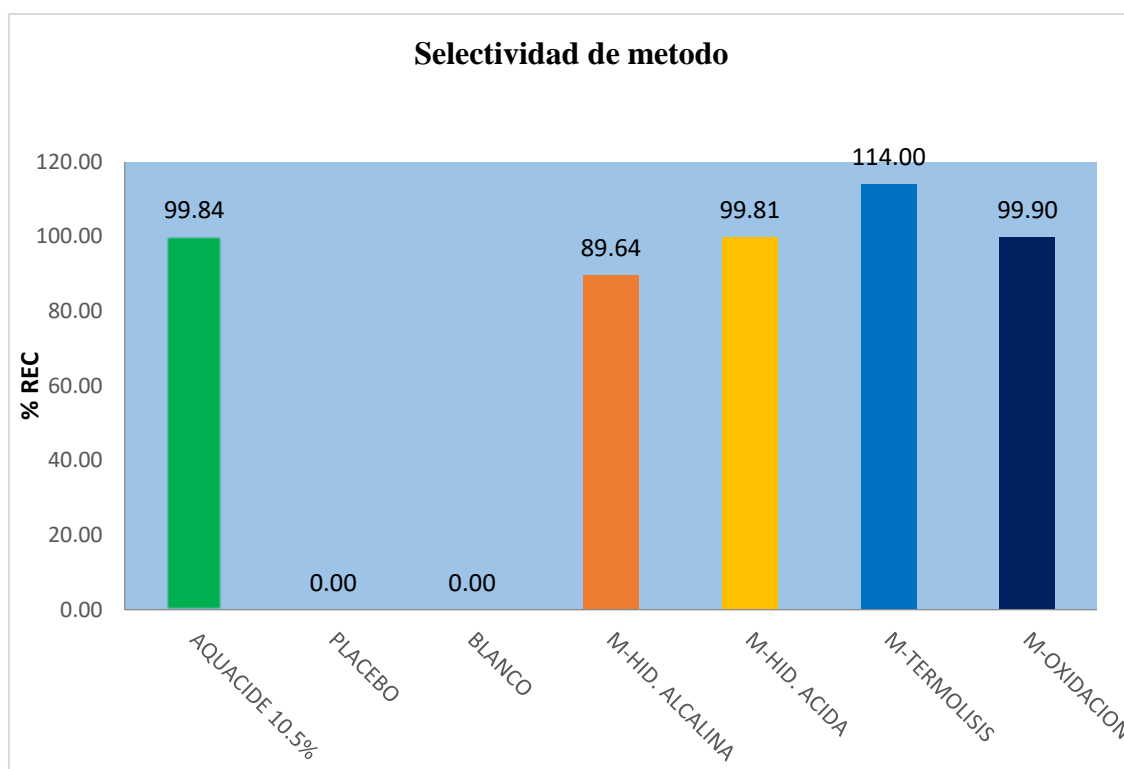


Gráfico 4: Diferentes muestras preparadas con y sin glutaraldehído en la respuesta encontrada por espectrofotometría. Las barras nos indican la respuesta del analito

y las muestras sin analito no tuvieron respuesta considerable del parámetro de selectividad.

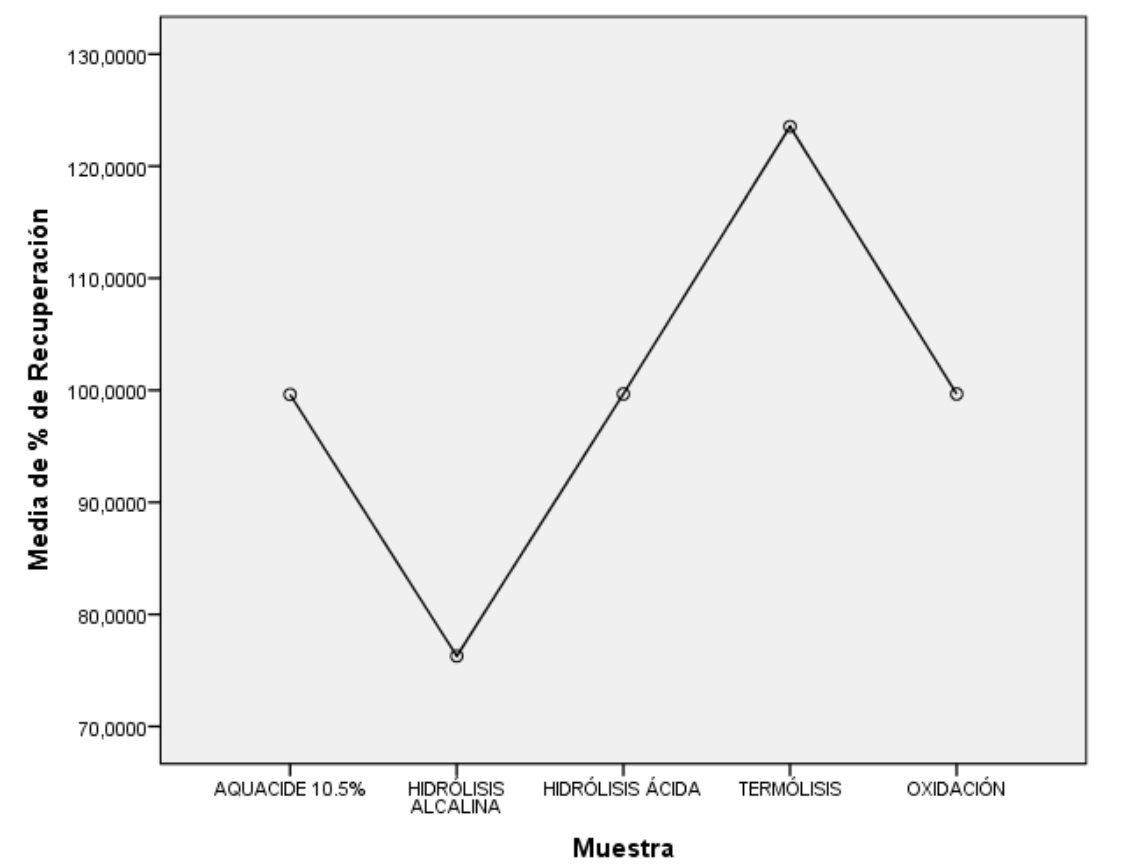


Gráfico 5: Diferencia de las muestras preparadas para el parámetro de selectividad de acuerdo al porcentaje de recuperación aplicada en SPSS.

Tabla 22: Resultado del parámetro de selectividad, aplicando la data estadística SPSS.

	N	Media	Desviación estándar (s)	95% del intervalo de del porcentaje de recuperación confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
AQUACIDE 10.5%	4	99.6221	0.1037	99.4571	99.7871	99.5581	99.7752
HIDROLISIS ALCALINA	4	76.2776	0.2869	75.8211	76.7341	75.9762	76.6676
HIDROLISIS ACIDA	4	99.6714	0.3069	99.1831	100.1597	99.2419	99.9695
TERMOLISIS	4	123.5389	0.4824	122.7713	124.3064	123.1610	124.1686
OXIDACION	4	99.6714	0.1238	99.4744	99.8684	99.4857	99.7333
Total	20	99.7563	15.3364	92.5786	122.7713	124.3064	124.1686

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

Muestra en primer lugar los promedios del porcentaje de recuperación obtenido en cada una de las muestras sometidas a diferentes tipos de estrés, el valor promedio más alto se observa en la muestra sometida a TERMOLISIS (media=123.5389) y en contraparte el menor promedio se observa en la muestra sometida a HIDROLISIS ALCALINA (media = 76.2776).

También tenemos las desviaciones típicas de cada muestra la mayor variabilidad en las respuestas se observa en la muestra sometida a TERMOLISIS (s=0.4824), además también tenemos las estimaciones de los promedios de porcentaje de recuperación esperados para cada muestra al 95% de confianza, así por ejemplo se espera que el promedio de porcentaje de recuperación de una muestra sometida a termólisis varía entre 122.7713 y 124.3064%, la última columna muestra los valores extremos (máx. y min) observados en las 4 repeticiones de cada muestra.

Tabla 23: Resultado del parámetro de selectividad, aplicando la data estadística ANOVA para la prueba de homogeneidad de varianzas.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig (p valor).
2.569	4	15	.081

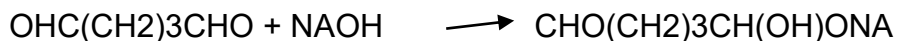
Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

La tabla 23 muestra que la significancia es mayor al 5% (p valor = 0.081) lo cual nos permite decir que las variabilidades observadas entre las 5 muestras son iguales, es decir hay homogeneidad de varianzas por lo cual podemos aplicar una prueba ANOVA.

NOTA:

Posible reacción: para el caso de hidrolisis alcalina al presentar una menor concentración.



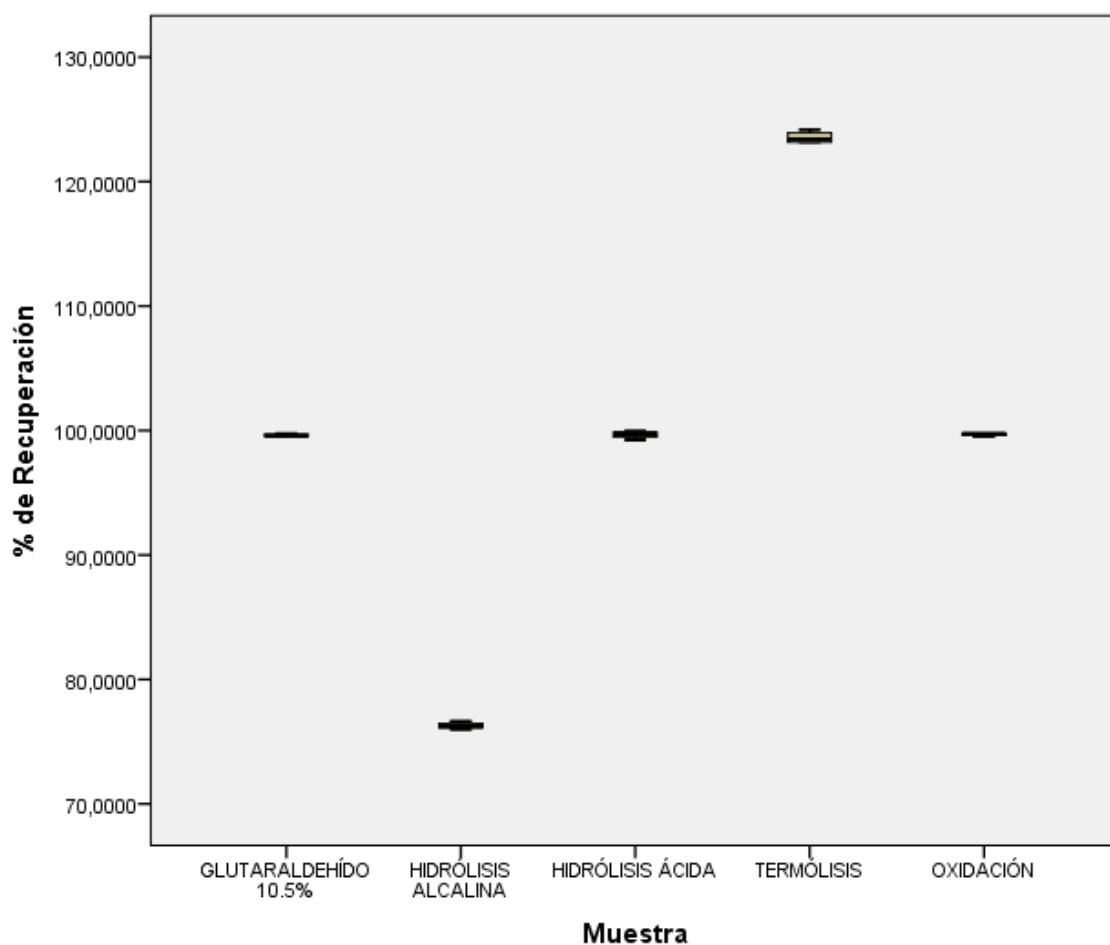


Figura 7: Diagrama de cajas del porcentaje de recuperación del parámetro de selectividad.

Interpretación: Las cajas de la figura 8 tienen una amplitud muy pequeña, es la compresión de cajas indica que existe una muy pequeña variabilidad de los resultados en cada muestra (precisión)

Tabla 24: Prueba ANOVA aplicado en el parámetro de selectividad.

Ho: El promedio de los 5 tratamientos son iguales.

H1: El promedio de al menos un tratamiento es diferente.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig (p valor).
Entre grupos	4467.566	4	1116.891	12831.706	.000
Dentro de grupos	1.306	15	.087		
Total	4468.871	19			

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación:

Como la significancia de la prueba es menor al 5% (p valor = 0.000) concluimos que al menos el promedio de una de las muestras es diferente, es decir el tipo de estrés influye en el porcentaje de recuperación.

Para determinar cuál o cuáles de los tipos de estrés producen promedio de porcentaje de recuperación diferente usaremos la prueba de Tukey, la cual asume homogeneidad de varianzas.

Tabla 25: Comparaciones Múltiples de Tukey para el parámetro de selectividad.

✓ **Prueba Tukey para la igualdad de medias:**

Ho: el promedio del tratamiento I es igual al promedio del tratamiento J.

H1: el promedio del tratamiento I es diferente al promedio del tratamiento J.

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia de medias (I-J)	Sig (p valor).
AQUACIDE 10.5%	HIDROLISIS ALCALINA	23.3445250*	.000
	HIDROLISIS ACIDA	-.0493000	.999
	TERMOLISIS	-23.9167250*	.000
	OXIDACION	-.0492750	.999

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa SPSS).

Interpretación: Al observar el p valor notamos que las muestras sometidas a OXIDACION e HIDROLISIS ACIDA presentan un promedio estadísticamente igual a la muestra AQUACIDE 10.5% (p mayor a 0.05), de otro lado los promedios en las muestras sometidas a HIDROLISIS ALCALINA y TERMOLISIS presentan promedios de porcentaje de recuperación diferente a la muestra AQUACIDE 10.5% (p valor = 0.000).

Tabla 26: Resultados de % de Discrepancia para el parámetro de selectividad.

	N	Media	% de discrepancia
AQUACIDE 10.5%	4	99.6221	
HIDROLISIS ALCALINA	4	76.2776	-23.4%
HIDROLISIS ACIDA	4	99.6714	0.0%
TERMOLISIS	4	123.5389	24.0%
OXIDACION	4	99.6714	0.0%

Interpretación: Presenta los porcentajes de discrepancia, los cuales para las muestras HIDROLISIS ALCALINA y TERMOLISIS son en términos absolutos cercanos al 24% con referencia a la muestra AQUACIDE 10.5%

4.7.1 ENSAYO**: ROBUSTEZ DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

Materia Prima : Glutaraldehído

Equipo : Espectrofotómetro

Potencia : 50.00 % Fecha : 15/05/2018

Lote : D681H9QD01

Analista : Elizabeth Canaza Luque

Tabla 27: Absorbancias y concentraciones adquiridas en cada muestra porcentaje de glutaraldehído en el parámetro de robustez.

Muestras	Concentración de la sol. muestra (Cu)	Abs de la sol. Muestra (Au)	Abs de la sol. Blanco de la muestra (Aub)	Concentración de Glutaraldehído en la sol. Estandar (ug/mL) (Cs)	Abs de la solución estandar (As)	Abs de la sol. Blanco del estandar (Asb)	Concentración p/v	Concentración práctica	% DE REC
1	M1	0.523	0.063	49.999	0.518	0.057	99.989	10.4988	99.9886
	M2	0.521	0.063		0.519	0.058	99.554	10.4532	99.5543
	M3	0.522	0.064		0.520	0.059	99.554	10.4532	99.5543
2	M1	0.523	0.068	50.001	0.512	0.053	99.374	10.4343	99.3743
	M2	0.524	0.067		0.512	0.056	100.468	10.5491	100.4676
	M3	0.520	0.065		0.510	0.053	99.809	10.4800	99.8095
3	M1	0.522	0.065	50.000	0.515	0.054	99.343	10.4310	99.3429
	M2	0.523	0.065		0.514	0.055	99.994	10.4993	99.9933
	M3	0.522	0.065		0.515	0.055	99.558	10.4536	99.5581
4	M1	0.523	0.062	49.998	0.520	0.056	99.571	10.4549	99.5705
	M2	0.522	0.064		0.519	0.057	99.351	10.4318	99.3505
	M3	0.523	0.065		0.518	0.056	99.351	10.4318	99.3505
5	M1	0.525	0.069	49.999	0.512	0.053	99.561	10.4539	99.5610
	M2	0.523	0.068		0.513	0.055	99.560	10.4538	99.5600
	M3	0.522	0.066		0.514	0.055	99.561	10.4539	99.5610
6	M1	0.524	0.067	50.001	0.513	0.054	99.777	10.4766	99.7771
	M2	0.522	0.069		0.509	0.053	99.555	10.4532	99.5543
	M3	0.523	0.068		0.513	0.054	99.341	10.4308	99.3410
7	M1	0.524	0.069	49.999	0.512	0.054	99.560	10.4538	99.5600
	M2	0.523	0.071		0.513	0.058	99.556	10.4533	99.5552
	M3	0.522	0.070		0.514	0.056	98.904	10.3849	98.9038
8	M1	0.521	0.071	50.000	0.513	0.057	99.024	10.3975	99.0238
	M2	0.523	0.071		0.512	0.056	99.427	10.4398	99.4267
	M3	0.522	0.072		0.511	0.057	99.460	10.4433	99.4600

*%REC: Porcentaje de recuperación de glutaraldehído.

Concentración del estándar (µg/mL): 2.5g/100mL *1mL/500mL *1000000

Concentración muestra (µg/mL): 0.5g/100mL *1mL/100mL *1000000

*Se tomó 4.7619 * densidad (mg) de solución desinfectante correspondiente a 50ug/mL de glutaraldehído

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Tabla 28: Factores nominales, alternativos en los resultados obtenidos para la prueba de robustez según el test de Youden y Steiner para el glutaraldehído recuperado.

Tipo	FACTORES			EXPERIMENTO							
	Clave	Nominal	Alternativo	1	2	3	4	5	6	7	8
Analista	A,a	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2
pH de la muestra	B,b	6.5	7.0	6.5	6.5	7.0	6.5	6.5	6.5	7.0	6.5
Cubas para lectura	C,c	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2	C1	C2
temperatura de la muestra	D,d	25°	30°	25°	25°	30°	30°	30°	30°	25°	25°
Agua destilada	H,h	AP	AD	AP	AD	AP	AD	AD	AP	AP	AD
Tiempo de reposo de la solución muestra	F,f	25 minutos	20 minutos	25	20	20	25	25	20	20	25
Clorhidrato de Hidroxilamina	G,g	Lab. Baker	Lab. Medrox	J.T. Baker	Lab. Medrox	Lab. Medrox	J.T. Baker	Lab. Medrox	J.T. Baker	J.T. Baker	Lab. Medrox
RESULTADOS				s	t	u	v	w	x	y	z
				10.4684	10.4878	10.4613	10.4395	10.4539	10.4535	10.4307	10.4269

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Tabla 29: Test de Youden y Steiner para el glutaraldehído recuperado en la muestra (Aquacide) con siete factores variantes del parámetro de robustez.

Condición Variable		PROMEDIO		Diferencia	Comparación
Nominal X	Alternativo x	X	x	X-x	dif < $\sqrt{2}(s)$
A	a	10.4643	10.4412	-0.023	No sensible a la Variable
B	b	10.4659	10.4396	0.0263	No sensible a la Variable
C	c	10.4536	10.4519	-0.0016	No sensible a la Variable
D	d	10.4534	10.4521	-0.0014	No sensible a la Variable
E	e	10.4536	10.4519	-0.0016	No sensible a la Variable
F	f	10.4472	10.4583	0.0112	No sensible a la Variable
G	g	10.4480	10.4575	0.0094	No sensible a la Variable

Fuente: Elaboración propia (Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S y programa de microsoft Excel 2013).

Donde:

S: 0.0203 (desviación estándar del procedimiento original)

$\sqrt{2} \times S$: 0.00287

Interpretación:

Todos los factores presentan efectos en valor absoluto menores al valor crítico (0.0287), lo cual es un indicador de que a variaciones pequeñas durante el proceso de análisis del analito no presentará variabilidad considerable.

En otras palabras, los factores considerados presentan estabilidad aun cuando se usan condiciones alternativas, no obstante, hay que tratar de controlar el efecto del analista y el pH debido a que sus efectos son relativamente cercanos al valor critico cuando se usan valores alternativos.

4.2. Prueba de hipótesis.

1. La validación de la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del glutaraldehído 10,5% cumple con todas las exigencias de acuerdo con la categoría. Cumple con los parámetros de exactitud, precisión, selectividad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez según los criterios de la USP 40.
2. El desarrollo de un protocolo de validación para la técnica analítica glutaraldehído 10,5 % solución dispositivo médico, (clasificado de alto riesgo) demuestra la validez, confiabilidad y seguridad de la metodología.
3. Es válida la conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica en la determinación de glutaraldehído 10,5%, estableciendo un informe de resultados por espectrofotometría UV-Visible para la cuantificación de glutaraldehído 10,5 % solución. Demuestra: la linealidad, precisión, exactitud, y robustez del rango de aceptaciones estudiado, cumpliendo con la hipótesis planteada.

4.3. Discusión de resultados.

Este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio ROKER PERÚ en el área de control cumpliendo los parámetros de aceptación por la USP 40.

En la tabla 21: Se presentan los resultados del parámetro de selectividad, determinando los promedios del porcentaje de recuperación obtenido en cada una de las muestras sometidas a diferentes tipos de estrés, el valor promedio más alto se observa en la muestra sometida a TERMÓLISIS (media=123.5389) y en contraparte el menor promedio se observa en la muestra sometida a HIDRÓLISIS ALCALINA (media = 76.2776). La finalidad de este parámetro es evaluar la estabilidad del analito e indicar la optimización de la preparación de la muestra, y concordar con las investigaciones realizadas por diversos autores Castro M, Gastón S, Pujol M.³³

En la tabla 27: Se presentan los resultados del parámetro de robustez, la desviación estándar es 0.00203 y constituye la medida previsible de imprecisión del método cuando se utiliza en análisis de rutina, ya que este procedimiento introduce deliberadamente el tipo de variación en las variables que puede esperarse ocurra, durante el empleo normal del método, esto indica, que a variaciones pequeñas durante el proceso de análisis del analito, no presenta variabilidad en consideración a diversos autores Castro M, Gastón S, Pujol M.^{32,33}

En la tabla 18: Se presentan los resultados del parámetro de exactitud donde tiene una recuperación de glutaraldehído de 99.8656% (Criterio de aceptación 98 % – 102%), el test de Cochran tiene una igualdad de varianza, al ser $G_{exp} < G_{tabla}$ no existe diferencia significativa entre las variantes de la valoración de las muestras a las diferentes concentraciones de 80, 100 y 120%, por lo que, la exactitud es correcta; el test de t de student es la diferencia de la media y como resultado tiene que ser $t_{exp} < t_{tabla}$, no existe diferencia significativa en la recuperación media y el 100%, por lo tanto, la exactitud es correcta, además, este estudio coincide con los criterios de aceptación de Paizano H, Ruiz B.⁹

En la tabla 6: Se presentan los resultados del parámetro de linealidad del método. Como el valor del coeficiente de variación es menor a 2%, podemos afirmar que se encuentra dentro de los valores establecidos, lo cual nos afirma que los datos obtenidos no presentan variaciones significativas y el valor de t experimental obtenido es mayor que el de "t" de la tabla, calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de significación del 5% (probabilidad, $p = 0.05$), entonces si hay correlación entre "x" e "y", esta correlación lineal es alta y directa o positiva coincide con los criterios de aceptación García J. ⁷

En la tabla 3: Se presentan los resultados del parámetro de la linealidad de sistema. Como el valor del estadístico de prueba ($t=144.7575$) es mayor que el "t" de la tabla, calculado para (n-2) grados de libertad y un nivel de significación del 5% (probabilidad de error, $p = 0.05$), entonces, sí hay correlación entre "x" e "y", dado que r es cercano a uno ($r = 0.9894$) decimos que la correlación es alta y directa o positiva, y del coeficiente de variación es menor al 2% ($cv\%=0.3435\%$) podemos concluir que este se encuentra dentro de los valores establecidos, lo cual, nos afirma que los datos obtenidos no presentan variaciones significativas coincidiendo con los criterios de aceptación de Paizano H, Ruiz B. ⁹

En la tabla 9: Se presenta el parámetro de precisión – repetibilidad con un coeficiente de variación, la concentración encontrada en las muestras es menor al 2%, por lo tanto, se encuentra dentro de los valores establecidos. El método demuestra que la precisión es adecuada ya que presenta una mínima variación en la reproducción de los resultados, el intervalo para el promedio al 95% de confianza tiene una amplitud bastante reducida cumpliendo con Vallejo C. ¹⁹

En la tabla 14, 15 y 16: Se presenta el resultado del parámetro de precisión-intermedia, muestra las estadísticas descriptivas de acuerdo a la concentración del glutaraldehído obtenidas por cada analista en días diferentes, en el caso del analista uno, obtuvo una concentración promedio del glutaraldehído de 10.4753, el cual es muy similar al obtenido por el Analista 2, además, se presentan los intervalos estimados para dichos promedios al 95% de confianza, cabe resaltar la

escasa variabilidad de los resultados obtenidos cuando se combinan ambas mediciones ($CV\% = 0.1502\%$). Aplicación del test estadístico ANOVA de acuerdo al análisis de glutaraldehído parámetro precisión intermedia. El test de Fisher $F_{exp} 0.55226 < F_{tabla} 4.96460274$, por lo que, los resultados promedios obtenidos por ambos analistas no difieren estadísticamente. Como el p valor de la igualdad de varianzas es mayor a 0.05 se concluye que las varianzas son homogéneas, la prueba T confirma el resultado mostrado en la prueba ANOVA. Las concentraciones del glutaraldehído obtenidas por los analistas, presentan una homogeneidad en sus varianzas con igualdad de medias. (no se observa diferencias estadísticas significativas); cumpliendo los criterios de aceptación de Paizano H, Ruiz B. ⁹

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que:

1. El estudio básico - experimental se demuestra la validez de la metodología aplicada del protocolo de validación cumpliendo con los parámetros de aceptación de especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método, precisión, exactitud y robustez recomendadas por la farmacopea USP 40.
2. La técnica analítica desarrollada en la investigación es conforme y segura porque no se evidencia sustancias interferentes que influyan en la cuantificación del analito, cumple los parámetros.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible descrito y evaluado es adecuado para la cuantificación de glutaraldehído 10,5% en solución dispositivo médico, queda validado y documentado.

5.2. Recomendaciones.

1. Se recomienda enfrentar la técnica analítica desarrollada a la reproducibilidad con otros laboratorios, para la utilización del método de análisis en determinación de glutaraldehído 10,5 % solución y cualquier modificación en la técnica analítica significa una revalidación de dicho proceso.
2. Se recomienda realizar estudios en otro equipo como el HPLC Cromatografía líquida de alta eficacia (High Performance Liquid Chromatography).
3. La validación es una medida universalmente reconocida, por diferentes organismos internacionales como parte fundamental de todo sistema completo de garantía de calidad y es un componente esencial, por lo cual, debe ser implementado para producir datos analíticos fiables realizando la validación del método o técnica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castillo B. Gonzales R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Rev. cubana Farm. [revista en el internet]. 1996 [citado 18 de Mayo 2017]; 30(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0034-75151996000100009&lng=es.
2. Adalid J, Alavedra M, Amela J, Aparici M, Beaus R, Beaus R. Cualificación y validación. 1ª ed. Barcelona: Romagraf; 2007.
3. Organización de las Naciones Unidas. Oficina de las Naciones Unidas contra las drogas y el delito Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos [monografía en internet] New York; junio 2010 [citado 18 de mayo 2017]. Disponible En: http://www.unodc.org/documents/scientific/Validation_Maual_STNAR41_Ebook_S.pdf
4. Organización Panamericana de la salud. Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. Practicas adecuadas de fabricación: directrices sobre la validación de los procesos de fabricación. Documento N° 34, anexo 06. [monografía en internet] Washington. DC: junio 2011 [citado 04 de marzo 2017]. Disponible En: http://new.Paho.org/hq/dmdocuments/2008/7_Anexo_6_del_informe_34.pdf
5. Mariños A, Mendoza B. Validación del método analítico por espectrofotometría UV/VIS visible para la cuantificación de glibenclamida 5 mg en tabletas, universidad nacional de Trujillo - 2012 [Tesis] [Con fecha de acceso. El 20 de mayo del 2018]. Web disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1776/Mari%C3%B1os%20Flores%20Ana%20Esmeralda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Dirección General de Medicamento Insumo y Drogas (DIGEMID). Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Aprobado bajo la Resolución Ministerial N° 055-99. SA/DM. Perú. 1999;27,71.

7. García J. Validación de la Técnica Analítica por Espectrofotometría UV-VISIBLE para la Cuantificación e Identificación de Riboflavina, Trujillo – Perú 2016 [Tesis] [citado 15 de abril 2017].
8. Morales de la Cruz. Desarrollo y Validación Prospectiva de una Técnica Analítica por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) para Enalapril 10 mg Tabletas Recubiertas. Tesis de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 2008 [Tesis]. [citado 15 de abril 2017]. Web disponible en: sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/morales.../morales_cc.pdf
9. Paizano H, Ruiz B. Validación del método espectrofotométrico UV-visible para la cuantificación y disolución de tinidazol tableta de 500 mg, en el laboratorio nacional de control de calidad de medicamentos abril- noviembre 2015, universidad nacional Autónoma de Nicaragua – febrero 2016.[Tesis] [citado 19 de abril 2017] Web disponible en: <http://repositorio.unan.edu.ni/2542/1/47721.pdf>
10. [United States Pharmacopeia National Formulary. Validación de Procedimientos Farmacopeicos USP 40. -. Estados Unidos de América. 2017. pp: 1952-1960.](#)
11. [Castro M. Gaston S, Pujol M. Validación de métodos analíticos. A.E.F.I. sección catalana, Madrid, 1998.](#)
12. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Decreto Supremo N° 016-2011-SA. Reglamento para el Registro, Control y Vigilancia Sanitaria de Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios. Lima. El peruano, 2011.
13. Anteproyecto Directiva Sanitaria que establece los criterios la clasificación de Dispositivos Médicos en base al riesgo y regula las condiciones esenciales que deben cumplir en el Perú, 2012, DIGEMID. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/UpLoaded/PDF/Publicaciones/DocumentosVarios/P32_2012-12-21_Directiva_Peru.pdf
14. Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas [DIGEMID]. Guía de validación de métodos analíticos [monografía en internet] Lima: 1999 [citado 12 de marzo 2017].

15. Roman S. Pourquoi valider et comment valider. STP PHAMA Pratiques 1997; 7 (5): 332-338.
16. Capcha H., Llanos G. Desarrollo y Validación de un método analítico para la cuantificación de Dexametasona y Clotrimazol en crema por HPLC y análisis de productos comercializados en el Perú [internet]. Perú: Lima; 2007 [citado 21 de mayo 2017]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3095/1/Capcha_eh.pdf
17. Skoog. et al. Análisis instrumental. 7ª edición. México Mc Graw HILL/INTERAMERICANA DE MEXICO, S.A. DE C.V. páginas 577 y 578
18. Skoog, Douglas A. y Donald M. West. Análisis Instrumental. 2ª ed. Traducción Mario Calcagno. Editorial McGraw-Hill. México: 1989.
19. Vallejo C. Valoración de la efectividad antimicrobiana de un desinfectante de amonio cuaternario de última generación, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua Leon – Nicaragua, 2016.
20. Regulación No.16-2000: Directrices sobre Buenas Prácticas de fabricación de productos farmacéuticos, Centro Estatal para el Control de los Medicamentos, Ciudad de La Habana, 2000.
21. ICH, Guidance on Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and Products: Chemical Substances. Federal Register 65 (251) 83041, 2000.
22. Brown R. et al. Analytical procedures and Methods validation: Highlights of the FDA's Draft Guidance, LCGC, 19, 74, 2001.
23. Farras R, Guardino S. Prevención de la exposición a glutaraldehído en hospitales. Centro nacional de condiciones de trabajo. Ministerio del trabajo y asuntos sociales de España. INSHT. 2000 [citado 08 de abril 2017]. NTP: 506.NIPO:211-00-021-0. Web disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_506.pdf
24. Skoog D, Holler F, Nieman T. *Principios de Análisis Instrumental*. Quinta Edición. McGrawHill España. 2001.
25. Abbot, L. The use and effects of glutaraldehyde Occup. Health 47 (7) 238-239 (1995)

26. Leslie, G.B. The Toxicologic Importance of Formaldehyde and Glutaraldehyde in the Hospital Environment Indoor Built. Environ. 5 132-137, (1996)
27. Beauchamp, R. A Critical review of the toxicology of glutaraldehyde, critical reviews in toxicology, 1992. 22(3,4): 143-174. DOI: 10.3109/10408449209145322.
28. Fauli I. Trillo; Tratado de Farmacia Galénica; Validación de Procesos y Analítica de Medicamentos; capítulo 7, pag 115-123; Madrid, 1996.
29. Castro M, Gaston S, Pujol M. Validación de metodos analíticos A.E.F.I. Sección catalana; Madrid, 1999.
30. Alonso J, Blanco J, Bustamante P. Tecnología farmacéutica. Madrid. Editorial síntesis. Vol 2: Formas farmacéuticas; 1997.
31. Frederick M. Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos. Madrid: Edición Española; 1991.
32. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.). Validación de Métodos Analíticos, Comisión de Normas de la Correcta Fabricación y Control de calidad, Seccion Catalaña, España, 2001.
33. Castro M, Gaston S, Pujol M. Validación de metodos analíticos A.E.F.I. Sección catalana; Madrid, 2001.
34. Guideline for industry – text on validation of analytical procedures [en línea]. ICH Q2A; 1995 [citado 23 de marzo 2017]. URL disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm073381.pdf>
35. Who expert committee on specifications for pharmaceutical preparations [en línea]. TRS 981: forty-seventh report; 2013. [citado 23 de marzo 2017]. URL disponible en: http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/TRS981.pdf
36. Guidance for Industry-Analytical Procedures and methods validation for drugs and biologics [en línea]. U.S. department of health and human services, food and drug administration: CMC;2014. [citado 19 de abril 2017]. URL disponible en:

<http://www.fda.gov/downloads/drug/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm386366.pdf>



37. DIGEMID, Validación de técnicas analíticas propias del producto terminado directiva sanitaria N° 001 Minsa /digemid. Disponible en:
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/EPFarma/MBP/ManualBuenasPracticas3.pdf>
38. Grab L.A, Thels A.B. Comparative Biocidal Efficacy vs. Sulfate Reducing Bacteria. Nacce Annual Conference 92. Houston, Texas, USA. 1992
39. Eagar R. G. Jr., Thels A.B. Control of Microbiological Fouling with Glutaraldehyde. Union carbide corporation publication. Bound Brook, New Jersey. USA febrero 1987.
40. Costerton J. W, Lashen E.S. The inherent biocide resistance of corrosion-causing biofilm bacteria. NACE annual conference 83. Paper No 246. Anaheim, California USA, 1983.
http://tesis.udea.edu.co/bitstream/10495/5745/1/GuerreroJuan_2016_Dise%C3%B1oimplementaci%C3%B3nprotocolos.pdf
41. United States Pharmacopeia National Formulari. Espectroscopia Ultravioleta – Visible – Teoría y Práctica USP 40. -. Estados Unidos de América. 2017. pag: 2447-2457.
42. López I. (1999). Spectrophotometer, Instrument Manual. Hach Company, pag 32-41.
43. Guerrero J. Diseño e implementación de protocolos de validación para equipos médicos/quirúrgicos de monitoreo, universidad Antioquia –2016. [Tesis] [citado 19 de junio 2018] Web disponible en:
http://tesis.udea.edu.co/bitstream/10495/5745/1/GuerreroJuan_2016_Dise%C3%B1oimplementaci%C3%B3nprotocolos.pdf
44. Zetina A. Comparación de la efectividad desinfectante del glutaraldehído GLUTASEPT® (SEPTODONT) con PERESAL® (KAVO); mediante inóculos bacterianos, Universidad San Carlos de Guatemala – noviembre 2010 [Tesis] [citado 25 de junio 2018] Web disponible en:
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/09/09_1991.pdf

ANEXOS

ANEXO N° 1: REPRESENTACIÓN DE PREPARACIÓN, DISOLUCIÓN y CONCENTRACIÓN DE GLUTARALDEHÍDO

a) Valoración del glutaraldehído

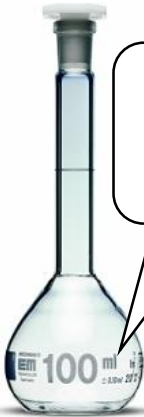



Contiene no menos de 100.0% y no más de 110,0% en volumen de la cantidad declarada de glutaraldehído.

SOLUCIÓN AMORTIGUADORA: (SOLUCION A)	SOLUCIÓN DE CLORHIDRATO DE HIDROXILAMINA: (SOLUCION B)
 <p>Solución A: pesar 2,59 g de fosfato monobásico de potasio y 6,77 de fosfato dibásico de sodio anhidro en matraz volumétrico 1000 mL</p>	 <p>Solución B: Pesar 0,0175 g de hidroxilamina diclorhidrato en una Fiola de 250 mL, disolver en solución amortiguadora y enrasar con la misma así se obtendrá los 70 ug/mL de clorhidrato de hidroxilamina</p>

SOLUCIÓN ESTÁNDAR:


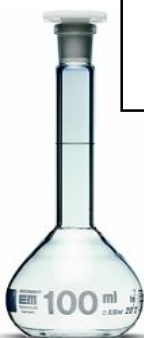


$$50 \text{ ug/mL} \times 1 \text{ g/1000 mg} \times 1 \text{ mg/ 1000 ug} = 0.00005$$

50 ug/ml de glutaraldehído en agua a partir del concentrado del Glutaral.


Primera dilución	Segunda dilución	Tercero análisis
<p>Concentración de 2,5 g en matraz volumétrico de 100 mL.</p>  <p> $m(g) = \frac{[2.5] \times 100}{[st]}$ </p>	<p>Concentración de 0,0005 g en matraz volumétrico de 500 mL.</p>  <p>tomar 1mL de la primera dilución a un matraz volumétrico de 500 mL y llevar a volumen final con agua purificada</p>	<p>Solución blanco del estándar: Agregar 10.0 mL de solución estándar y 10.0ML de solución A en un matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua a volumen.</p>  <p>Solución estándar del estándar: Agregar 10.0 mL de solución estándar y 10.0 mL solución B a un matraz volumétrico 50 mL y diluir con agua a volumen mezclar y dejar reposo durante 25 minutos.</p> 

SOLUCIÓN MUESTRA:

50ug/mL de glutaraldehído en agua a partir de la solución desinfectante.

Primera dilución	Segunda dilución	Tercero análisis
<p> $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ $10.5 \text{ g} \times V_1 = 0.5 \text{ g} \times 100 \text{ mL}$ $V_1 = 4.7619 \text{ mL}$ $m \text{ (g)} = 4.7619 \text{ mL} \times \rho$ </p> <p>Producto al 10,5 g de glutaraldehído</p> <p>Concentración de 2,5 g en matraz volumétrico de 100 mL.</p> 	<p>Tomar 1ml de la primera dilución a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen final con agua purificada</p> <p>Concentración de 0,0005 g en matraz volumétrico de 100 mL.</p> 	<p>Solución blanco de la muestra: Agregar 10.0 mL de solución muestra y 10.0ml de solución A en matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua a volumen</p>  <p>Solución muestra de la muestra: matracas Agregar 10.0 ml de la solución muestra y 10 ml de solución B a cada matraz volumétrico de 50 ml, diluir con agua a volumen mezclar y dejar un reposo durante 25 minutos.</p> 

SOLUCION BLANCO REACTIVO:

	<p>Solución blanco de reactivo: Agregar 10.0 mL de solución A y 10 mL de solución B a un matraz volumétrico de 50 mL y diluir con agua a volumen.</p>
---	--

Condiciones instrumentales:

Espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS	Calculo
<p>Modo: UV Longitud de onda analítica: 238nm</p> <p>Blanco: Soluciones blanco de reactivos</p> <p>Análisis:</p> <p>Determinar concomitantemente las absorbancias de la solución estándar, solución muestra, solución blanco del estándar y solución blanco de la muestra.</p> <p>Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de Glutaraldehído [C₅H₈O₂] en la porción de la solución desinfectante tomada.</p> $glutaraldehido \% = \left[\left(\frac{A_u - a_{ub}}{A_s - A_{sb}} \right) \right] * \left(\frac{C_s}{C_u} \right) * 100$	<p>A_u: Absorbancia de la solución de la muestra</p> <p>A_{ub}: Absorbancia de la solución blanco de la muestra</p> <p>A_s: Absorbancia de la solución estándar.</p> <p>A_{sb}: Absorbancia de la solución blanco del estándar</p> <p>C_s: Concentración del glutaraldehído en la solución estándar (ug/mL).</p> <p>C_u: Concentración de la solución de muestra.</p> <p>Procedimiento</p> <p>Criterio de aceptación: (100.0% - 110%)</p>

Fuente: Técnica propia.

ANEXO N° 2: EQUIPO ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE

Marca Thermo Cientific modelo Genesys 10S UV-VIS



Componentes del espectrofotómetro

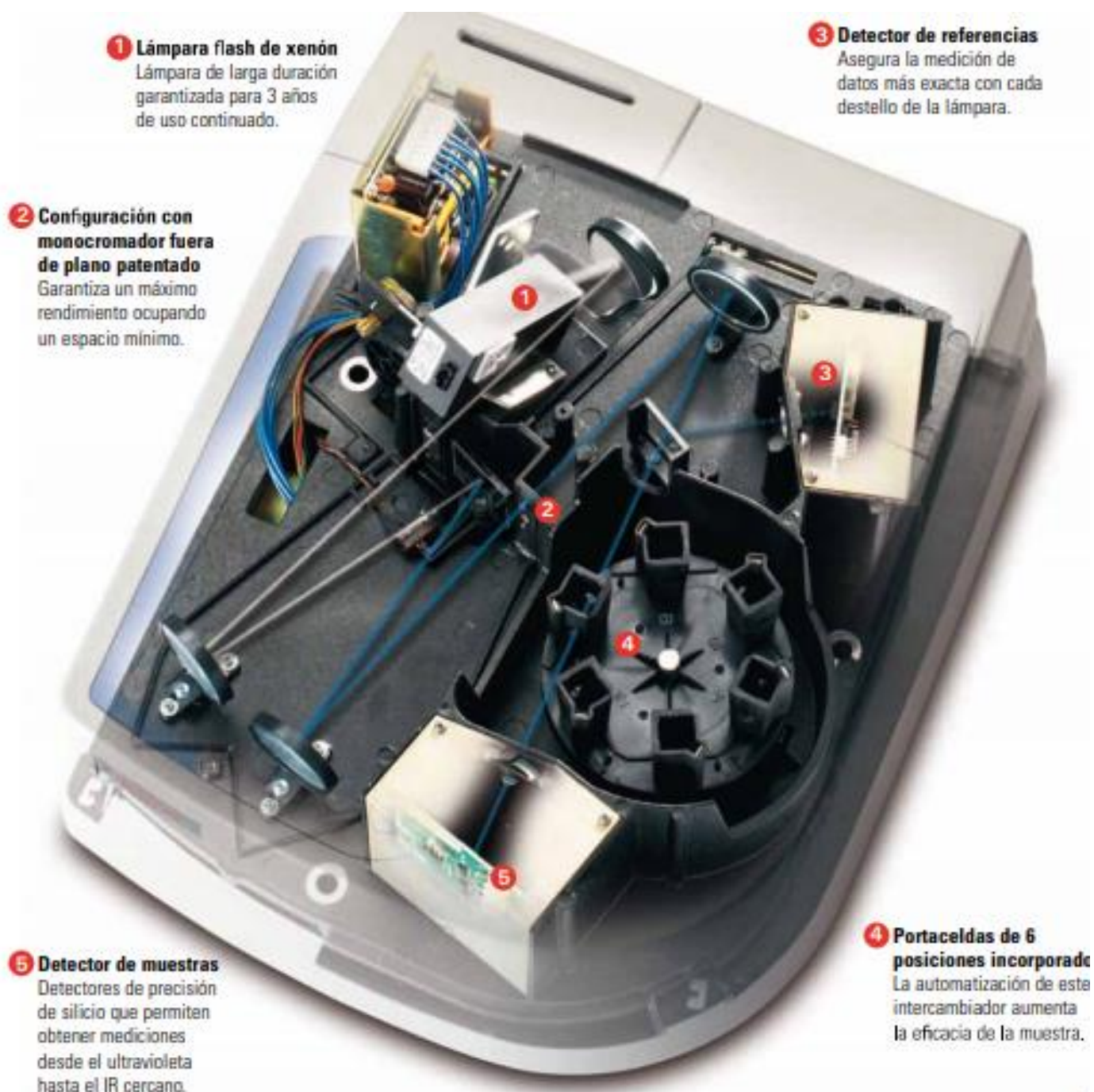
Éstos son algunos de los componentes externos más importantes de un instrumento típico:



Fuente: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/brochures/BR51776E-0113M-GENESYS-10S-Brochure-L.pdf>

ANEXO N° 3: EQUIPO ESPECTROFOTOMETRO UV-VISIBLE PARTES INTERNAS

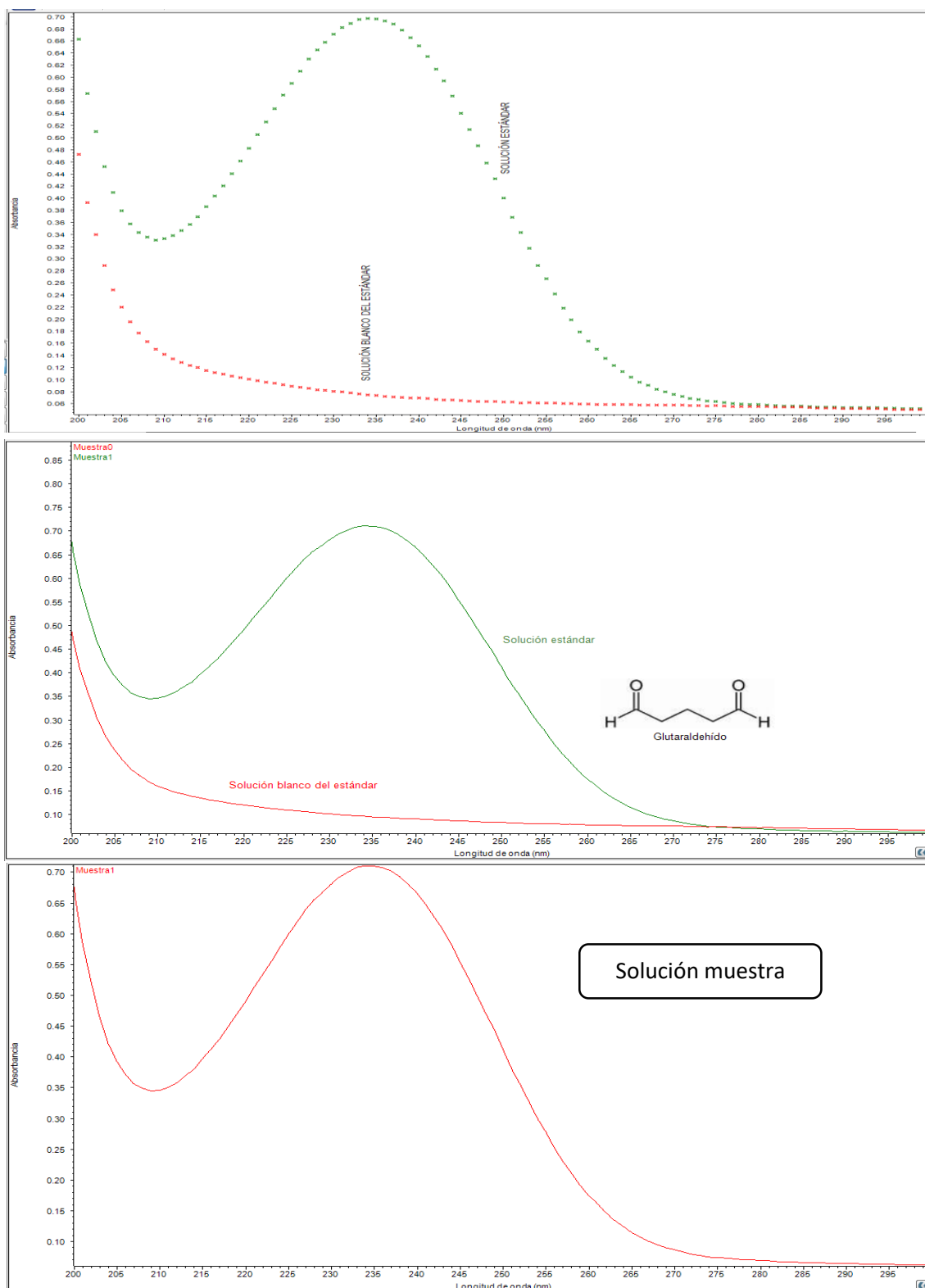
Marca Thermo Cientific modelo Genesys 10S UV-VIS



Fuente: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CAD/brochures/BR51776E-0113M-GENESYS-10S-Brochure-L.pdf>

ANEXO N° 4: IDONEIDAD DEL MÉTODO EN ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE

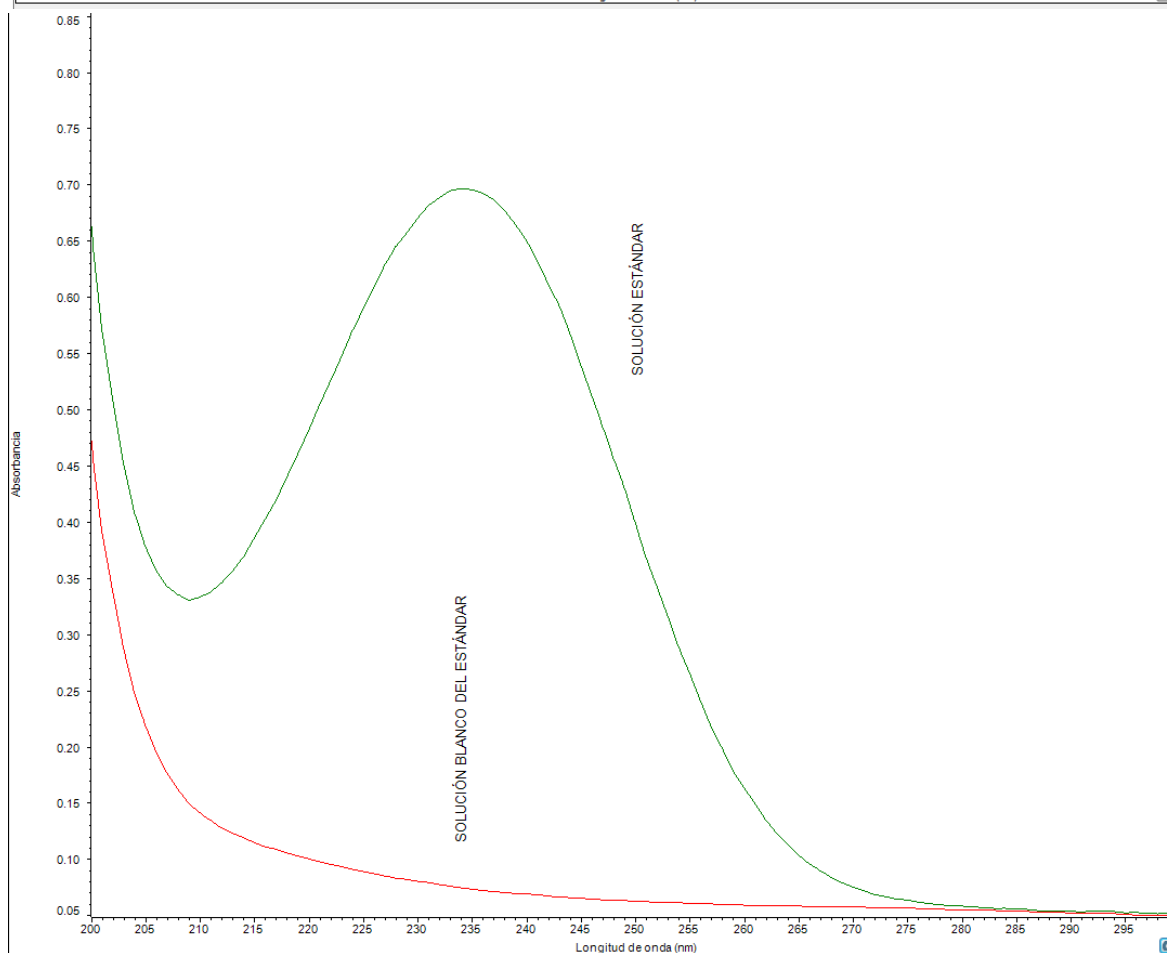
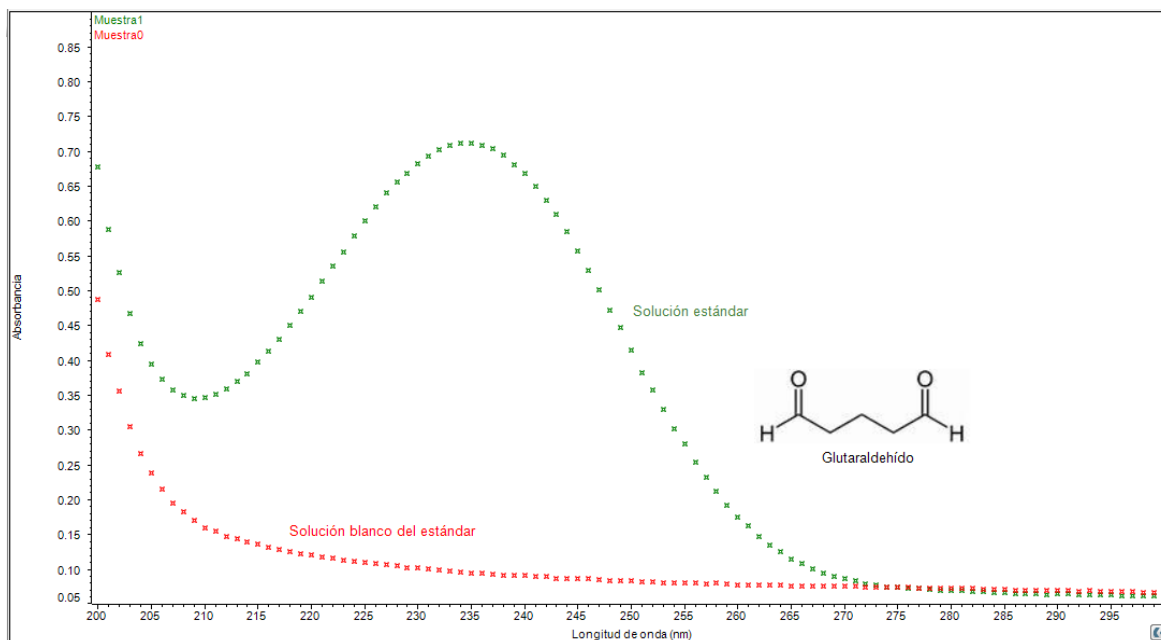
Idoneidad del método para la cuantificación de Glutaraldehído 10,5% solución.



Fuente: Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS

ANEXO N° 5: CALIBRADO DEL SISTEMA EN ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISIBLE

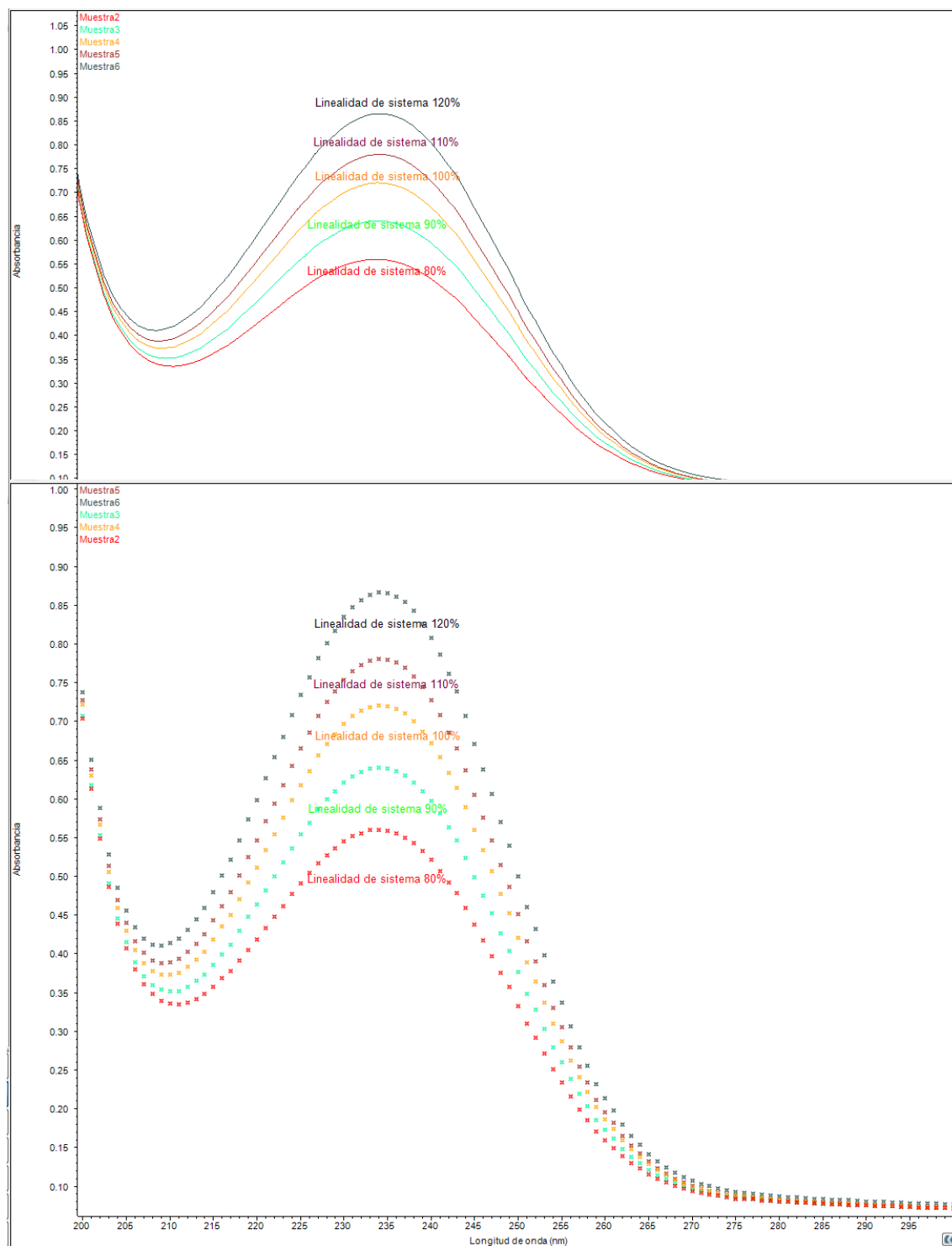
Calibrado del sistema en absorbancias, estándar secundario Glutaraldehído



Fuente: Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS

ANEXO N° 6: ESPECTROS DEL PARAMETRO DE LINEALIDAD DE SISTEMA

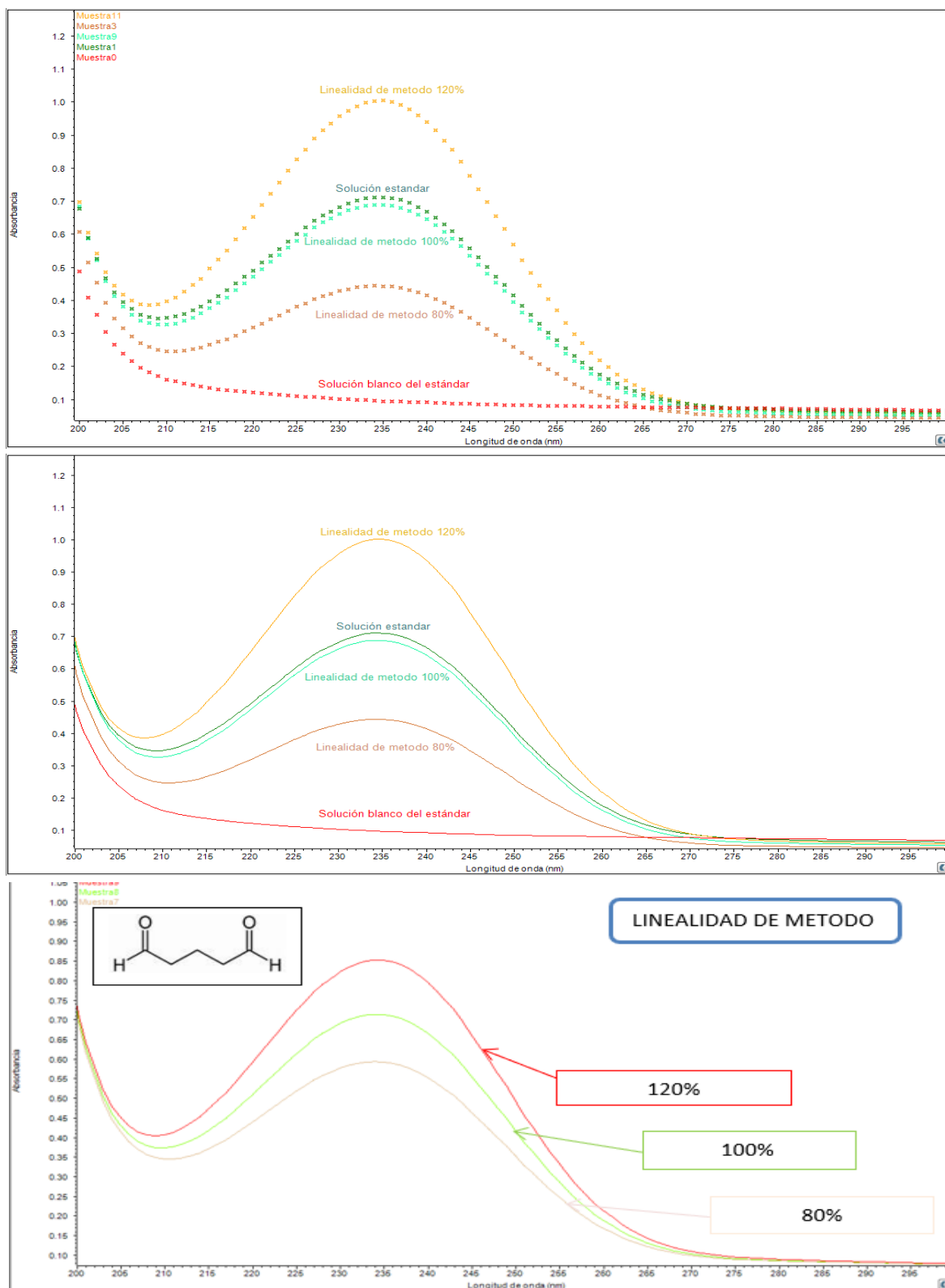
Linealidad del sistema en absorbancia, muestra de glutaraldehído solución 10,5%



Fuente: Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS

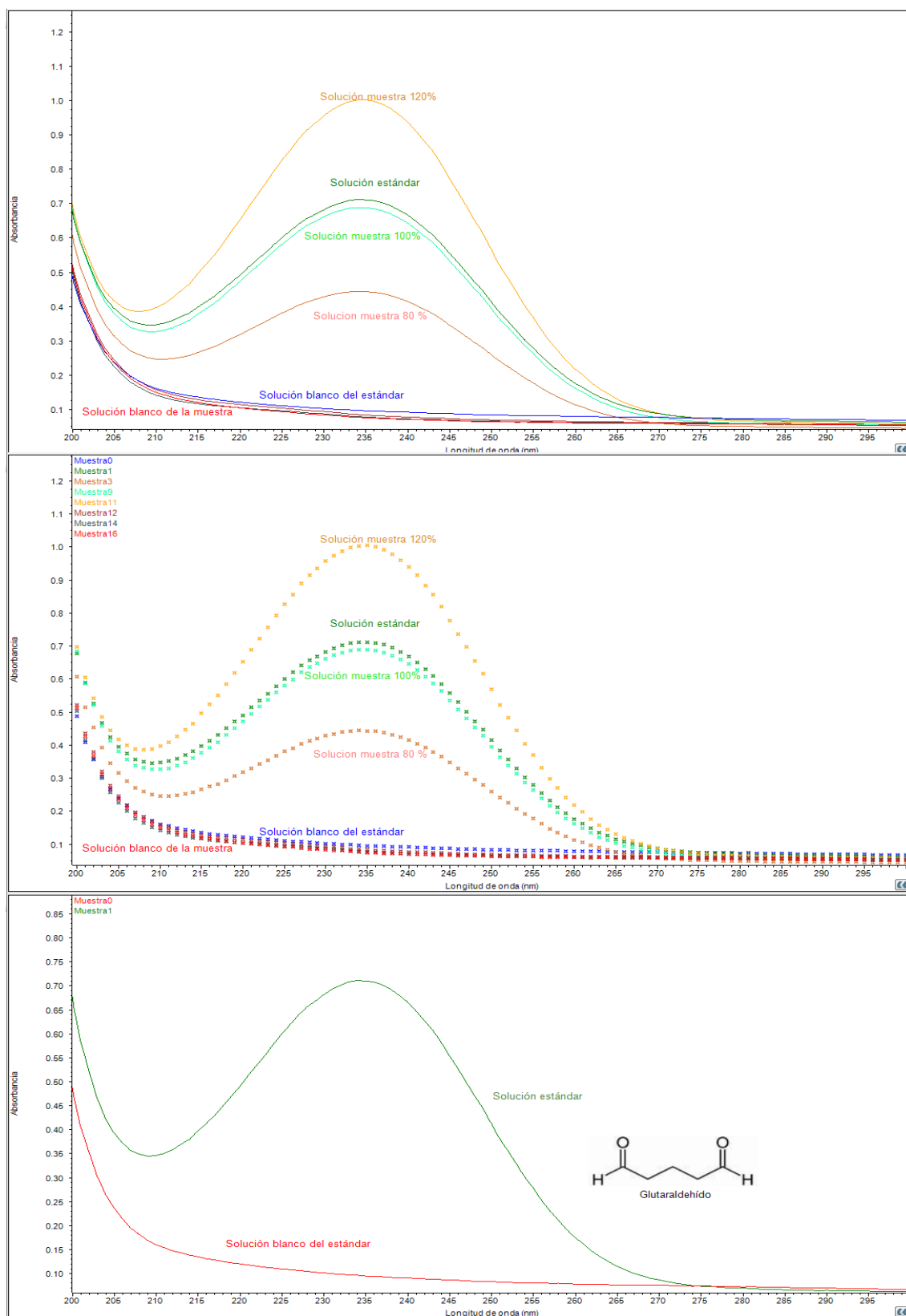
ANEXO N° 7: ESPECTROS DEL PARAMETRO DE LINEALIDAD DEL MÉTODO

Linealidad del método en absorbancia, muestra de glutaraldehído solución 10,5%.



Fuente: Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS

ANEXO N° 8: ESPECTROS DEL PARAMETRO DE EXACTITUD



Fuente: Chemstation Software Thermo Scientific Genesys 10S UV-VISIBLE.

ANEXO N° 9: CERTIFICADO DE CALIDAD GLUTARALDEHÍDO

Date 2017-10-23 (YYYY-MM-DD) Time 15:38:40 (Greenwich Mean Time) Page 1 of 1																																											
THE DOW CHEMICAL COMPANY	DISAN PERU SA MZ B LOTE 10 CENTRO INDUSTRIAL LAS PRADERAS LURIN 100 LIMA PERU <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center; margin-top: 10px;">OC 23669</div>																																										
Certificate of Analysis Product Number 00000248899 Product Name UCARCIDE™ 50 Antimicrobial Delivery No. 811240834 / 000010 Order Number 150475397 Shipping Units 43.000 DR Date Shipped 2017-10-23 (YYYY-MM-DD) Shipment No. 30588021	Customer Information Customer Name DISAN PERU SA Customer PO number OC 23669 Customer Product Code GLUTARALDEHIDO UCARCIDE 50 - TP226 Container ID HLXU1008477																																										
Batch Number D681H9QD01 Expiration Date 2019-03-27 (YYYY-MM-DD) Manufacturing Date 2017-09-26 (YYYY-MM-DD) Quantity 43.000 DR Net Weight 9752.400 KG																																											
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Test</th> <th>Unit</th> <th>Lower Limit</th> <th>Upper Limit</th> <th>Value</th> <th>Method</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Specific Gravity @ 20/20degC</td> <td></td> <td>1,126</td> <td>1,135</td> <td>1,127</td> <td>ASTM D4052</td> </tr> <tr> <td>A.I. (Glutaraldehyde)</td> <td>WT%</td> <td>50,0</td> <td>51,5</td> <td>50,8</td> <td>DOWM 102080</td> </tr> <tr> <td>pH @ 25degC</td> <td></td> <td>3,1</td> <td>4,5</td> <td>3,9</td> <td>ASTM E70</td> </tr> <tr> <td>Color, Pt-Co</td> <td></td> <td>0</td> <td>100</td> <td>6</td> <td>ASTM D1209</td> </tr> <tr> <td>Appearance</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>Pass</td> <td>DOWM 101967</td> </tr> <tr> <td>Methanol</td> <td>WT%</td> <td>-</td> <td>0,50</td> <td>0,14</td> <td>DOWM 102148</td> </tr> </tbody> </table>		Test	Unit	Lower Limit	Upper Limit	Value	Method	Specific Gravity @ 20/20degC		1,126	1,135	1,127	ASTM D4052	A.I. (Glutaraldehyde)	WT%	50,0	51,5	50,8	DOWM 102080	pH @ 25degC		3,1	4,5	3,9	ASTM E70	Color, Pt-Co		0	100	6	ASTM D1209	Appearance	-	-	-	Pass	DOWM 101967	Methanol	WT%	-	0,50	0,14	DOWM 102148
Test	Unit	Lower Limit	Upper Limit	Value	Method																																						
Specific Gravity @ 20/20degC		1,126	1,135	1,127	ASTM D4052																																						
A.I. (Glutaraldehyde)	WT%	50,0	51,5	50,8	DOWM 102080																																						
pH @ 25degC		3,1	4,5	3,9	ASTM E70																																						
Color, Pt-Co		0	100	6	ASTM D1209																																						
Appearance	-	-	-	Pass	DOWM 101967																																						
Methanol	WT%	-	0,50	0,14	DOWM 102148																																						
Formaldehyde Free Product - Based on knowledge of the manufacturing process and the controlled handling and storage of Dow Glutaraldehyde 50%, formaldehyde is not expected to be present in the product. For inquiries please contact Customer Service or local sales ® TM Trademark of The Dow Chemical Company ("Dow") or an affiliated company of Dow																																											

Garantizado por

ESTE CERTIFICADO ES FIEL COPIA DEL ORIGINAL

ANEXO N° 10: CERTIFICADO DE HOJA DE SEGURIDAD DEL GLUTARALDEHÍDO



HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

Nombre del Producto: **GLUTARALDEHÍDO**
Fecha de Revisión: Sept 2016. Revisión N°5



ONU: 2922



NFPA



HMIS

SECCION 1 : IDENTIFICACION DEL PRODUCTO Y DE LA COMPAÑÍA

PRODUCTO

Nombre Químico: GLUTARALDEHÍDO - C₅H₈O₂
Número CAS: 111-30-8
Sinónimos: Biocidex; glutardialdehído; 1,3-diformylpropane; glutaral; 1,5-pentanodiona, ASEP, Cidex, Jotacide, Sonacide, Aquacar.

COMPAÑÍA: GTM

Teléfonos de Emergencia

México : +52 55 5831 7905 – SETIQ 01 800 00 214 00
Guatemala: +502 6628 5858
El Salvador: +503 2251 7700
Honduras: +504 2564 5454
Nicaragua: +505 2269 0361 – Toxicología MINSA: +505 22897395
Costa Rica: +506 2537 0010 – Emergencias 9-1-1. Centro Intoxicaciones +506 2223-1028
Panamá: +507 512 6182 – Emergencias 9-1-1
Colombia: +018000 916012 Cisproquim / (571) 2 88 60 12 (Bogotá)
Perú: +511 614 65 00
Ecuador: +593 2382 6250 – Emergencias (ECU) 9-1-1
Argentina: +54 115 031 1774
Brasil: +55 21 3591-1868

SECCION 2 : COMPOSICION / INFORMACION SOBRE LOS INGREDIENTES

Glutaraldehído CAS: 111-30-8 50-51% Concentración

SECCION 3 : IDENTIFICACION DE PELIGROS


Clasificación ONU: Clase 8 Clase 6.1
Clasificación NFPA: Salud: 2 Inflamabilidad: 0 Reactividad: 0
Clasificación HMIS: Salud: *2 Inflamabilidad: 0 Físico: 0

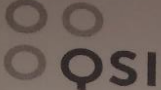
ANEXO N° 11: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN BALANZA METTLER TOLEDO

CERTIFICADO

CALIBRACIÓN

LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LC - 021





QUÍMICA SUIZA INDUSTRIAL DEL PERÚ S.A.
LABORATORIO DE CALIBRACIÓN
Av. República de Panamá 2577 La Victoria - Lima - Telef +51-1 710-4200 Anexo 2541
e-mail: salcab@qsiindustrial.biz
web: <http://www.qsiindustrial.biz/servicios/calibracion-de-equipos/>

El contenido de este documento sólo puede publicarse o reproducirse de forma completa

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN : BM0150 2018 OS EX - 14230 - 1

Solicitante : ROKER PERÚ S.A.

Dirección : Calle La Milla 220 Urb. La Milla - San Martín de Porres

OBJETO DE CALIBRACIÓN : BALANZA

Marca : METTLER TOLEDO

Modelo : AB204-S

Serie : 1122501664

Procedencia : SUIZA

Identificación : CC-01

Capacidad Máxima : 220 g

División de escala (d) : 0,0001 g

División de verificación (e) : 0,001 g

Tipo : ELECTRÓNICA

Ubicación : ÁREA DE PESADA

FECHA DE CALIBRACIÓN : 2018-03-07

MÉTODO DE CALIBRACIÓN

Comparación directa con pesas patrones de acuerdo al Procedimiento de Calibración de Balanzas de Funcionamiento no Automático Clase I y Clase II, PC - 011 del SNM-INDECOPI, Cuarta Edición abril 2010.

LUGAR DE CALIBRACIÓN : ÁREA DE PESADA
Calle La Milla 220 Urb. La Milla - San Martín de Porres

CONDICIONES AMBIENTALES

	Inicial	Final
Temperatura	25,9 °C	25,8 °C
Humedad Relativa	60,1 %	60,2 %


INCERTIDUMBRE

La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición que resulta de multiplicar la incertidumbre estándar por el factor de cobertura k=2. La estimación de la incertidumbre se realizó según el Procedimiento de Calibración de Balanzas de Funcionamiento no Automático Clase I y Clase II, PC - 011 del SNM-INDECOPI, Cuarta Edición abril 2010. Generalmente, el valor de la magnitud está dentro del intervalo de los valores determinados con la incertidumbre expandida con una probabilidad de aproximadamente 95 %.

Fecha de Emisión

Coordinador

2018-03-14


Carlos Mateo Villanueva

F-CAL-04

v.00

Página 1 de 3

ANEXO N° 12: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE TERMOMETRO DE VIDRIO y MATERIAL DE VIDRIO.

Página 1 de 1

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

N° CTU-342-2018
 Fecha de emisión: 2018-02-16
 Expediente: 1946-2018

UNIDAD BAJO PRUEBA: TERMÓMETRO DE LIQUIDO EN VIDRIO

Marca: ISOLAB
 Modelo: No Indica
 Serie: 119
 Identificación: P-10-02
 Ubicación: No Indica

Rango de indicación: 10 °C a 40 °C
 División mínima: 0,5 °C
 Procedencia: Alemania
 Líquido: Mercurio

SOLICITANTE: LABORATORIO ROKER PERU S.A.
 Dirección: Cal. La Milla Nro. 220 Urb. La Milla - San Martín de Porres - Lima - Lima.

DE LA CALIBRACIÓN:

Fecha: 2018-02-15
 Lugar: Laboratorio de Temperatura de UNIMETRO S.A.C.
 Método: La calibración se efectuó mediante el método de comparación directa
 Tomando como referencia la PC-017 "Procedimiento para la calibración de termómetros digitales", 1ra. Edición, Diciembre 2012, SNM-INDECOPI.

RESULTADO DE LAS MEDICIONES:

INDICACIÓN TERMÓMETRO (°C)	CORRECCIÓN (°C)	TCV (°C)	INCERTIDUMBRE (°C)
20,0	-0,2	19,8	0,3

Temperatura Convencionalmente Verdadera (TCV) = Indicación del termómetro + Corrección

La incertidumbre de la medición que se presenta esta basada en una incertidumbre estándar multiplicado por un factor de cobertura k=2, el cual proporciona un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

CONDICIONES AMBIENTALES:


	Inicial	Final
Temperatura (°C)	20,8	20,6
Humedad Relativa (%HR)	58,0	60,0
Tiempo de Estabilización	30 min.	

PATRONES DE REFERENCIA:

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de Calibración
Patrones de referencia del INACAL - DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-026-2018 INACAL-DM
Patrones de referencia del INACAL - DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-027-2018 INACAL-DM

OBSERVACIONES:

- El instrumento forma parte de un picnómetro de vidrio con Certificado de Calibración N° CVU-009-2018 emitido por UNIMETRO S.A.C.
- (*) Identificación asignada por LABORATORIO ROKER PERU S.A., grabada en una etiqueta adherida a la caja del instrumento.
- Se colocó una etiqueta con la indicación "CALIBRADO".
- La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento.



Ing. Moisés A. Inga Chucos
Gerente de Metrología
Rex. CIP N° 137294

PROHIBIDA SU REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACION ESCRITA DE UNIMETRO S.A.C.

Av. Gran Chimú N° 454 Urb. 76 de Agosto

ANEXO N° 13: CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE PICNÓMETRO

Página 1 de 1

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

N° CVU-009-2018

Fecha de emisión: 2018-02-16
Expediente: 1946-2018

UNIDAD BAJO PRUEBA: PICNÓMETRO

Marca: ISOLAB
Modelo: No Indica
Serie: 119
Material: Boro 3,3
Identificación: P-10-02 (*)
Ubicación: No Indica

SOLICITANTE: LABORATORIO ROKER PERU S.A.
Dirección: Cal. La Milla Nro. 220 Urb. La Milla - San Martín de Porres - Lima - Lima.

Capacidad Nominal: 10,136 ml
División de escala: No Aplica
Temp. de Referencia: 20 °C
Tipo: Ground-in Thermometer
Procedencia: Alemania

DE LA CALIBRACIÓN: Fecha: 2018-02-15
Lugar: Laboratorio de Calibración de UNIMETRO S.A.C
Método: Según el PC-015 "Procedimiento para la Calibración de Material Volumétrico de Vidrio", 5ta. Edición. 2017, INACAL-DM.

RESULTADO DE LAS MEDICIONES:

Volumen Nominal (mL)(***)	Volumen Contenido (mL)	Desviación (mL)	Incertidumbre (± mL)	Error Máximo Permisible (**) (± mL)
10,136	10,1416	0,0056	0,0025	1

La incertidumbre de la medición que se presenta esta basada en una incertidumbre estándar multiplicado por un factor de cobertura k=2, el cual proporciona un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

CONDICIONES AMBIENTALES:


	Inicial	Final
Temperatura (°C)	20,5	20,8
Humedad Relativa (%HR)	56,0	59,0

PATRONES DE REFERENCIA:

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de Calibración
Patrones de referencia del INACAL-DM	Balanza - Clase I Alcance: 220 g x 0,0001 g	CMU-016-2018 - UNIMETRO S.A.C.
Patrones de referencia del INACAL-DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-027-2018 INACAL-DM

OBSERVACIONES:

- (*) Identificación asignada por LABORATORIOS ROKER PERU S.A., grabada en una etiqueta adherida a la caja del instrumento.
- (**) Según norma ISO 3507 - 1999 "Laboratory Glassware - Pycnometers"
- (***) Valor nominal grabado en el instrumento.
- El instrumento forma parte de un picnómetro de vidrio con Certificado de Calibración N° CTU-342-2018 emitido por UNIMETRO S.A.C.
- Se colocó una etiqueta con la indicación "CALIBRADO".
- La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento.



Ing. Moisés A. Inga Chucos
Gerente de Metrología
Reg. CIP N° 137294

ANEXO N° 14: CERTIFICADO DE LA DATA ESTADISTICA

Lima 05 de julio del 2018

CERTIFICADO

ASUNTO: Informe de la Validación Estadística

Yo Pedro Yvan Saenz Rivera en mi calidad de Licenciado Estadístico por medio del presente certifico el informe de los procedimientos estadísticos del trabajo de Tesis: "VALIDACIÓN DE TÉCNICA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISIBLE PARA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE GLUTARALDEHIDO 10,5% SOLUCIÓN DISPOSITIVO MEDICO" presentado por la Bachiller Canaza Luque Elizabeth Marisa, de la Universidad Inca Garcilaso De La Vega Facultad de la facultad de Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica; la cual cuenta con la colaboración del asesor Mg. Q.F Montellanos Cabrera, Henry. Ya se ha revisado dicho documento y habiendo superado las observaciones dadas en su momento, creo oportuno dar la conformidad a los cálculos y procedimientos estadísticos, para que la Bachiller Canaza Luque Elizabeth Marisa continúe con la presentación de su trabajo, para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para saludarlo.

Atentamente:



Lic. Estadístico Pedro Yvan Saenz Rivera.
Docente UNFV-CODIGO 2000330.

ANEXO N° 15: EVIDENCIA EXPERIMENTAL FOTOS



ANEXO 16: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: VALIDACIÓN DE TÉCNICA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE PARA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE GLUTARALDEHÍDO 10,5%
SOLUCIÓN DISPOSITIVO MÉDICO

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL: ¿En qué medida se cumplirá la validación de la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5% solución dispositivo médico?</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1.- ¿De qué manera se podrá desarrollar un protocolo del proceso de validación de la técnica analítica con exigencias exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez?</p> <p>2.- ¿En qué medida será confiable y segura la validación de la técnica analítica del glutaraldehído 10,5% solución a analizar?</p> <p>3.- ¿Cuáles serán las conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica para la determinación de glutaraldehído 10,5%?</p>	<p>GENERAL: Validar la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del glutaraldehído 10,5% en solución dispositivo médico.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1.- Desarrollar un protocolo para la validación de la técnica, cumpliendo las exigencias de exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema linealidad de método y robustez.</p> <p>2.-Determinar la confiabilidad y seguridad la validación de la técnica analítica de glutaraldehído 10,5% analizado.</p> <p>3.-Determinar la conformidad y evidencia documentada de la técnica analítica para la determinación de Glutaraldehído 10,5%.</p>	<p>GENERAL:</p> <p>•La Validación de la técnica analítica por espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del Glutaraldehído 10,5% si cumple con las exigencias de los parámetros brindada por la USP 40.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>1.- El protocolo para la validación de la técnica analítica por espectrofotometría ultravioleta-visible para la determinación cuantitativa de glutaraldehído 10,5%, si cumple las exigencias de exactitud, precisión, especificidad, linealidad de sistema, linealidad de método y robustez.</p> <p>2.- Si existe la confiabilidad y seguridad de la validación de técnica analítica de glutaraldehído 10,5% analizado.</p> <p>3.- Se demuestra la conformidad y evidencia documentada en la técnica analítica en determinación de glutaraldehído 10,5%.</p>	<p>VI:</p> <p>Determinación cuantitativa de Glutaraldehído</p> <p>VD:</p> <p>Validación</p>	<p>VI:</p> <ul style="list-style-type: none"> Espectrofotometría UV-Visible Cuantificación analítica Concentración <p>VD:</p> <p>Parámetros de desempeño analítico</p> <ul style="list-style-type: none"> Exactitud Precisión Especificidad Linealidad de sistema Linealidad de método Robustez 	<p>VI:</p> <p>Pruebas de aptitud del sistema.</p> <p>-Instrumentos calificados y calibrados.</p> <p>-Integridad de la muestra.</p> <p>-Valoración de producto terminado.</p> <p>VD:</p> <p>-El cumplimiento de la categoría I según USP 40.</p> <p>-Cumplimiento de exigencias de la técnica analítica.</p> <p>-Métodos documentados.</p> <p>-Plan maestro de validación.</p>	<p>DISEÑO: Experimental descriptivo.</p> <p>TIPO: Aplicativo</p> <p>NIVEL: Correlacional y transversal.</p> <p>POBLACION: Glutaraldehído 10,5 %, 15 litros de muestra.</p> <p>MUESTRA: 105 muestras</p> <p>INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS: técnica analítica por Espectrofotómetro UV-VIS</p> <p>TECNICA: Experimental.</p> <p>INSTRUMENTO: Espectrofotómetro UV-Visible realizado en el laboratorio ROKER PERÚ S.A.</p> <p>PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS: Análisis estadísticos de regresión lineal, Test G de Cochran, Test T-student y ANOVA.</p>